S. SCHÄFLER

MICROORGANISMELE ȘI MEDIUL

3.37.58
int. 30

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

Scanned with OKEN Scanner

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE
COLECȚIA DE POPULARIZARE A ȘTIINȚEI

MICROORGANISMELE ȘI MEDIUL

DE

S. SCHÄFLER

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE
1955

PREFAŢĂ

Această carte reprezintă o încercare de a trata din punct de vedere biologic general cîteva aspecte mai importante legate de interacţiunea dintre microorganism şi mediu. Ea se adresează unui cerc mai larg de cititori cu cunoştinţe elementare de biologie. Credem însă că unele capitole vor putea fi de folos şi unor bacteriologi mai tineri, permiţîndu-le o primă orientare în unele probleme de importanţă teoretică mai generală din microbiologie.

Au fost tipărite cu caractere mici unele amănunte explicative pentru nespecialişti şi unele date care interesează un cerc mai restrîns de specialişti.

Dat fiind caracterul acestei cărţi, noi nu am dat bibliografia completă a problemelor atinse, am căutat însă să indicăm la fiecare capitol fie lucrări reprezentative, fie monografii mai recente, unde acei care se interesează mai îndeaproape de problema respectivă pot găsi indicaţiile necesare.

Scanned with OKEN Scanner

INTRODUCERE

Studiul microorganismelor, pornit de la primele observații ale lui Leeuwenhoeck a rămas mult timp o ramură a botanicii descriptive. Începînd din a doua jumătate a secolului trecut, sub imboldul cerințelor practicii medicale și agricole, microbiologia a căpătat, odată cu descoperirile geniale ale lui L. Pasteur, o dezvoltare tot mai mare, fiind legată în același timp de cele mai diferite domenii ale teoriei și practicii. Astăzi, agricultura științifică este de neconceput fără cunoașterea legăturilor dintre dezvoltarea plantelor și flora microbiană din sol, modificarea substanțelor nutritive din sol de către microorganismele din rizosfera plantelor, modificarea de către microorganisme a structurii solului etc. Fixarea biologică a azotului sau procesele fermentative din bălegar sînt probleme din cele mai importante ale agronomiei moderne. Ramuri importante ale industriei, cum ar fi industria fermentațiilor, sau industria inului și a cînepii, au la baza tehnologiei lor procese microbiologice.

Este bine cunoscută importanța microorganismelor în medicină, unde ele sînt studiate astăzi nu numai ca agenți etiologici ai bolilor infecto-contagioase, dar și în legătură cu producerea unor preparate biologice cu efect profilactic și curativ, cum sînt vaccinurile sau antibioticele.

Multe probleme de biochimie generală, ca biosinteza vitaminelor sau studiul unor enzime, au putut fi rezolvate mai ușor la nivelul microorganismelor, care constituie un material mai puțin complex decît animalele și plantele superioare.

Scanned with OKEN Scanner

Amintim numai importanța studiului fermentației alcoolice la levuri, pentru elucidarea diferitelor etape ale glicolizei musculare, sau studiul complexului de factori de creștere cunoscut sub numele de Bios, pentru găsirea unor vitamine deosebit de folositoare organismului uman. Cercetările de microbiologie au contribuit și la elucidarea unor probleme de biologie generală, cum ar fi transmiterea ereditară a caracterelor dobîndite, sau fenomenele de antagonism și simbioză.

Scopurile variate urmărite de diferiții cercetători și materialul faptic foarte vast ce se acumulează an de an, au dus la o subîmpărțire a microbiologiei în microbiologie generală, medicală, a solului etc. Din cauza acestei specializări, diferitele ramuri ale microbiologiei sînt uneori puțin cunoscute chiar de specialiștii, care lucrează în alte ramuri ale acesteia.

La această situație a contribuit și faptul că și în microbiologie, la fel ca în științele biologice în general, genetica mendelist-morganistă, ruptă de realitate, a obligat pe cercetătorii din diferitele domenii ale practicii, fie să acumuleze un material faptic într-o bună măsură neexplicat, fie să caute legi speciale, valabile numai în domeniul îngust în care lucrau. Această rupere artificială a studiului microbiologiei de legile biologice generale, îi îngreuiază biologului, ca și specialistului din alte domenii, cunoașterea problemelor centrale ale microbiologiei.

Microbiologia sovietică, care și-a găsit baza teoretică în dezvoltarea creatoare a darwinismului de către I. V. Miciurin și elevii săi, a arătat că legile valabile în diferitele domenii ale microbiologieî se pot încadra perfect în legile generale ale biologiei valabile pentru toate organismele vii. Mai mult decît atît, cunoașterea legăturii dintre fenomenele specifice pentru domeniul respectiv al microbiologiei și legile biologice generale constituie singura cale rațională pentru rezolvarea problemelor fundamentale ale fiecărui domeniu în parte. Numai cunoașterea legilor biologice generale poate face pe microbiolog să treacă de la constatarea proprietăților utile sau dăunătoare intereselor omului, la dirijarea lor în sensul dorit.

Legea de bază a întregii biologii materialiste este legea unității organismului cu condițiile sale de viață [1]). Această

---

[1]) O expunere amănunțită a acestei probleme poate fi găsită în lucrările de

concepţie, dezvoltată de I. V. Miciurin şi şcoala sa în domeniul geneticii şi fiziologiei vegetale şi de I. P. Pavlov în domeniul fiziologiei animale, este în deplină concordanţă cu rolul atribuit de Fr. Engels proteinei vii: „Viaţa este modul de existenţă a corpurilor albuminoide, şi acest mod de existenţă constă în esenţă în autoreînoirea continuă a componentelor chimice ale acestor corpuri“ (30) [1]).

Dacă pentru substanţele abiotice, condiţia păstrării lor nealterate este o izolare cît mai perfectă de influenţele mediului ambiant, păstrarea materiei vii cere un aport continuu de energie şi material plastic, care se găsesc numai în mediul ambiant. Organismul viu, rupt de mediu, este de neconceput. Numai datorită proceselor de asimilaţie şi dezasimilaţie apare forma specifică de mişcare, caracteristică pentru materia vie. Cercetări făcute cu izotopi radioactivi arată justeţea concepţiei despre existenţa unei legături continue a tuturor funcţiunilor organismului cu mediul ambiant, chiar în cele mai intime procese ale metabolismului celular.

Biologia miciuristă nu se rezumă însă la simpla afirmare a importanţei legăturii dintre organism şi mediu (lucru făcut de mulţi biologi progresişti, începînd cu Lamarck), ci a şi precizat conţinutul acestor legături. Ea accentuează asupra rolului determinant al mediului pentru desfăşurarea tuturor proceselor biologice, subliniind în acelaşi timp rolul activ al organismului în relaţiile sale cu mediul ambiant.

Diferiţii factori ai mediului ambiant nu au însă aceeaşi valoare pentru existenţa organismului — alta va fi importanţa prezenţei în mediu a unei vitamine pentru o bacterie auxoautotrofă, decît pentru una auxoeterotrofă, în timp ce prezenţa glucozei sau a maltozei în mediul de cultură poate fi indiferentă pentru amîndouă.

Această utilizare diferenţială a factorilor din mediu, conform cerinţelor specifice, fixate ereditar, a determinat pe biologii miciuriniști să deosebească noţiunea de „condiţii de existenţă“, respectiv „condiţii de viaţă“, de noţiunea mai largă de „mediu ambiant“, care nu ţine seama de tipul de metabolism specific al diferitelor specii. Noţiunea de condiţii de existenţă

---

specialitate (55), (202), (206). Noi ne vom rezuma în această lucrare la expunerea cîtorva aspecte mai importante ale problemei legăturii dintre organism şi mediu.

[1]) p. 96.

presupune o alegere activă din partea organismului, a acelor elemente din mediul ambiant, care satisfac necesitățile sale metabolice.

Acest fapt are o valoare metodologică deosebită. El determină pe cercetător să caute interrelațiile metabolice cu mediul pentru fiecare proces biologic în parte, obligîndu-l să treacă dincolo de simpla constatare, făcută de mulți biologi, a existenței unei legături între organism și mediu.

Deosebirea între noțiunea de condiții de viață și cea de mediu ambiant poate fi explicată în mod rațional numai privind organismele din punct de vedere istoric și admițînd transmiterea ereditară a caracterelor dobîndite. Biologia miciurinistă consideră că în cursul existenței lor individuale, organismele, adaptîndu-se la condiții noi de viață, își schimbă în mod adecvat ereditatea. Factorii noi din mediul ambiant, odată asimilați (ceea ce biologii miciuriniști numesc „hrană" în sensul larg al cuvîntului), încetează să fie factori externi, devenind o parte integrantă a organismului, căruia îi schimbă tipul de metabolism. În același timp, asimilarea unor condiții noi de mediu determină și la urmași modificarea cerințelor specifice față de mediu (modificări care se vor păstra desigur în filogenie, numai în cazul cînd vor avea o valoare pentru supraviețuirea individului respectiv în cursul procesului de selecție).

Cerințele nou apărute se vor transmite ereditar, nemodificate, dacă vor putea fi satisfăcute de mediu în cursul dezvoltării individuale a urmașilor și se vor modifica conform noilor condiții de viață, dacă mediul nu va satisface cerințele specifice ale generațiilor ulterioare (desigur modificările mediului nu trebuie să întreacă posibilitățile de adaptare ale indivizilor respectivi).

În consecință, organismele vii nu posedă nici o proprietate, care să nu fie determinată de mediul lor actual sau de cel al înaintașilor lor.

Această concepție se deosebește în mod fundamental de concepția morganistă, după care existența unui genotip ipotetic, transmisibil ereditar, condus după propriile sale legi și care nu poate fi influențat de mediul ambiant, separă în mod net organismul viu de mediu. În biologia miciurinistă nu există deosebiri esențiale între genotip și fenotip, ambele fiind determinate de legăturile metabolice cu mediul ambiant (noțiunile

de conservatism şi variabilitate ale eredităţii din biologia miciuristă au un conţinut cu totul diferit de noţiunea fixităţii şi mutaţiilor genelor).

Faptul că nu există nici o proprietate a unui organism viu, care să nu fie condiţionată de interrelaţiile metabolice prezente sau trecute cu mediul ambiant, determină şi metoda de lucru a geneticii miciuriniste. Astfel, în primul rînd se studiază istoricul speciei respective, se stabilesc interrelaţiile metabolice cu mediul ambiant (şi deci şi condiţiile de existenţă) şi apoi se modifică ereditatea speciei respective pe baza cunoaşterii cerinţelor sale specifice faţă de mediu.

Această metodă de lucru cere deci în primul rînd studiul specificului fiecărui organism în parte şi al relaţiilor sale cu mediul ambiant.

Din aceste motive, credem că este necesar să arătăm cîteva caractere care deosebesc microorganismele şi, mai ales, bacteriile de organismele pluricelulare şi importanţa acestor deosebiri pentru studiul relaţiilor lor cu mediul ambiant.

Microorganismele se caracterizează printr-un metabolism deosebit de intens, determinat, pe de o parte, de mărimea suprafeţei lor de contact cu mediul ambiant, şi, pe de altă parte, de faptul că fiecare celulă îndeplineşte un număr de funcţiuni (biosinteză, acumulare de substanţe de rezervă, catabolism, absorbţia hranei din mediul extern etc.), care la organismele pluricelulare sînt îndeplinite de celule specializate. Metabolismul intens al microorganismelor se manifestă şi prin viteza lor mare de înmulţire, care la bacteriile eterotrofe şi parazite este în medie de 2—3 diviziuni pe oră, iar la bacteriile termofile poate să ajungă pînă la 10 diviziuni pe oră. Schimburile intense şi multiple cu mediul ambiant, ca şi viteza lor mare de înmulţire, fac ca ereditatea bacteriilor să poată fi relativ uşor influenţată.

Pe de altă parte, în timp ce la organismele pluricelulare, interrelaţiile cu mediul ambiant sînt realizate deseori prin sisteme specializate şi influenţa mediului asupra celorlalte celule este numai indirectă, făcîndu-se prin intermediul sistemului nervos la animale, sau prin afluxul de substanţe nutritive şi cu activitate catalitică la plante, la microorganisme acţiunea mediului se exercită nemijlocit asupra fiecărei celule în parte.

Păstrarea, deseori foarte stabilă, a caracterelor ereditare la microorganisme nu se datoreşte existenţei unor celule sexuale

sau a unor organe speciale de reproducere, deseori numai în mod indirect influențabile de modificările mediului, ci păstrării tipului de metabolism specific, care se poate modifica uneori parțial în privința unor funcțiuni, fără a se modifica însă în totalitate. Păstrarea caracterelor ereditare se datorește în primul rînd păstrării nemodificate a acelor funcțiuni metabolice, care determină biosinteza specifică a proteinelor.

Diviziunea rapidă și natura unicelulară a microorganismelor au făcut ca noțiunea de transmitere ereditară a caracterelor dobîndite, sau noțiunea de generație, să capete uneori un sens diferit la microorganisme, de cel de la plante și animalele superioare. La microorganisme, pe lîngă modificările ereditare, uneori foarte profunde, apărute sub influența mediului, găsim foarte frecvent și modificări de mai scurtă durată, care pot persista la un număr limitat de reînsămînțări pe medii nutritive. Astfel de modificări sînt considerate de microbiologi ca modificări temporare. În acest caz, o modificare, care se menține la 1000 de generații de celule microbiene în decurs de aproximativ 30 de treceri zilnice, va fi considerată de microbiologi ca o modificare de scurtă durată, în timp ce la animale sau plante, o modificare care persistă 1000 de generații, poate fi considerată deosebit de stabilă.

Noțiunea de ontogenie și de generație capătă și ea un sens diferit la microorganisme. Dacă unii cercetători numesc ontogenie ciclul dintre două diviziuni ale unei singure celule, N. D. Ierusalimski (69), (70) consideră ca ontogenie, dezvoltarea unei culturi bacteriene într-un spațiu mai mult sau mai puțin limitat, iar după G. P. Kalina (81), V. A. Krestovnikova (108) și alții, dezvoltarea ontogenetică a microorganismelor poate cuprinde un număr foarte mare de diviziuni, în cursul cărora celula bacteriană capătă forme morfologice și proprietăți fiziologice din cele mai diferite.

La organismele pluricelulare, tipul de adaptare funcțională rezultă din îmbinarea strînsă a modificărilor morfologice și funcționale, modificările morfologice fiind determinate de cele funcționale și constituind în același timp suportul lor material (de exemplu, adaptările morfologice ale plantelor xerofite, dezvoltarea sistemului nervos central cu toate consecințele sale, dezvoltarea mîinii la om etc.).

Scanned with OKEN Scanner

La microorganisme, modificările morfologice au un rol mai puțin important, accentul principal căzînd asupra modificărilor de ordin metabolic.

Cu greu am putea deosebi două mamifere după tipul lor de respirație sau după modul de degradare a glucidelor, ci le deosebim mai ales după caractere de ordin morfologic sau proprietăți fiziologice legate mai ales de gradul de dezvoltare a sistemului lor nervos. Din contra, la bacterii forma lor (coc, bacil, așezarea și forma sporului, proprietățile tinctoriale) nu permit o diferențiere mai precisă a acestora, diferențiere care se face în primul rînd după caracterele lor fiziologice (tipul de respirație, fermentare de zaharuri etc.) și serologice.

Dacă diversitatea de forme este incomparabil mai mare în regnul vegetal și animal, în schimb, la microorganisme găsim o diversitate mult mai mare de tipuri de metabolism. La bacterii găsim atît forme autotrofe, care își sintetizează toate substanțele organice complexe ale corpului lor din bioxid de carbon și amoniac, cît și forme eterotrofe cu necesități în vitamine, mult mai complexe decît orice mamifer. Găsim, pe lîngă organisme strict aerobe, organisme anaerobe, pentru care oxigenul este toxic. Există bacterii criofile, care se pot înmulți la o temperatură de sub 0^0 și altele stenotermofile, care nu pot crește decît la temperaturi mai mari de 40^0.

Diversitatea compușilor organici și anorganici atacați de microorganisme întrece de asemenea cu mult pe aceea a compușilor utilizați de organismele pluricelulare. Există bacterii, care atacă în mod exclusiv hidrocarburi (159) și altele care utilizează rodanatul de amoniu sau aluminosilicații. Unele bacterii utilizează hidrogen sau acidul formic, iar altele diferite rășini etc.

Studiul relațiilor microorganismelor cu mediul ambiant trebuie să privească deci într-o măsură mult mai mare procesele de schimb de substanțe, decît cele de morfogeneză (fără a neglija, desigur, importanța acestora din urmă).

O proprietate foarte importantă, care caracterizează un număr mare de microorganisme, este acumularea de produși intermediari în mediul de cultură, produși deseori foarte caracteristici pentru specia microbiană respectivă (bacteriile lactice, acetobutirice etc.). Acumularea de produși intermediari în mediul de cultură poate fi de o importanță deosebită pentru interrelațiile cu alte specii. Alcoolul etilic, butanolul, acetona,

acizii organici acumulați în mediul de cultură, pot inhiba creșterea unei bacterii concurente, în timp ce secretarea de vitamine și de o serie de alte substanțe organice poate fi factorul determinant al unor interrelații de simbioză sau comensualism.

Modificările organismului sub influența mediului nu privesc numai modificările ereditare, ci mai ales modificări temporare, care vor influența într-o măsură foarte redusă proprietățile urmașilor. Aceste modificări temporare sînt însă deosebit de importante pentru supraviețuirea organismului în condițiile variate ale mediului. La animale, acestei necesități îi corespunde dezvoltarea sistemului nervos, care asigură apariția unor multiple legături temporare cu mediul ambiant, iar la plante aceste adaptări se fac deseori prin modificări de creștere.

La microorganisme, modificările temporare sînt, mai ales, de natură metabolică, ele se fac prin formare de enzime adaptative, înlocuirea unor sisteme enzimatice prin altele, modificări de permeabilitate etc.

Din cele afirmate pînă aici nu se poate însă trage concluzia că microorganismele sînt complet deosebite de restul lumii vii și că rezultatele găsite la diferitele grupe de organisme nu sînt, într-o bună măsură, aplicabile și la celelalte grupe de organisme vii, ținînd seama desigur de deosebirile lor specifice.

Dat fiind că volumul redus al acestei lucrări nu permite cuprinderea tuturor interrelațiilor metabolice existente între microorganisme și mediu, vom încerca să redăm în cele ce urmează cîteva categorii de interrelații ilustrate prin exemple tipice și urmările lor, atît pentru microorganism, cît și pentru mediul ambiant.

Pentru a putea corespunde cît mai bine scopului propus, lucrarea cuprinde :

I. *Legătura microorganismelor cu mediul*. În această parte a lucrării vom analiza relațiile metabolice stabilite în mod istoric între anumite grupe de microorganisme și mediul lor ambiant (ecologia microorganismului în sensul larg al cuvîntului). Ținînd seama de natura dinamică a mediului, vom analiza și unele modificări temporare ale microorganismelor în funcție de mediu.

II. *Modificările eredității microorganismelor sub influența mediului*.

Desigur că această împărțire a materialului este într-o bună măsură arbitrară. Este foarte grea delimitarea modificărilor neereditare de cele ereditare și nu putem înțelege ecologia microorganismelor fără a ține seama de mecanismul apariției diferitelor tipuri ecologice de microorganisme sub influența mediului.

Credem totuși că această împărțire a materialului poate da, cu rezervele amintite, imaginea complexă a principalelor tipuri de interrelații ale microorganismelor cu mediul ambiant.

Scanned with OKEN Scanner

PARTEA ÎNTÎIA

LEGĂTURA MICROORGANISMELOR CU MEDIUL

Scanned with OKEN Scanner

După cum am mai arătat, interrelațiile cu mediul ambiant sînt deosebit de variate la microorganisme. Unele din aceste interrelații, cum ar fi cele ale bacteriilor care utilizează ca surse de energie compuși anorganici, sau a bacteriilor termofile, sînt atît de caracteristice, încît au creat anumite tipuri ecologice care cuprind microorganisme aparținînd unor genuri sau chiar familii diferite. La fel de caracteristice pot fi interrelațiile microorganismelor cu macroorganismele sau cu alte microorganisme. Din această cauză, punctul de vedere ecologic capătă o însemnătate tot mai mare în studiul celor mai diverse specii microbiene.

Pînă nu de mult predomina, mai ales în microbiologia medicală, concepția că bacteriile trebuie studiate pe cît posibil pe medii artificiale, care deseori diferă mult de condițiile naturale de viață ale speciilor respective. În momentul de față, punctul de vedere al lui S. Winogradski (210) de a studia microorganismele pe medii apropiate de condițiile de viață naturale, dezvoltat de cercetătorii sovietici Isacenko, Imșeneț ki, Omeleanski, Krasilnikov și alții, mai ales în domeniul microbiologiei agricole și generale, cîștigă tot mai mult teren, nu numai în microbiologia solului, dar și în cea medicală.

Ca o ilustrare a importanței punctului de vedere ecologic în microbiologia medicală, amintim numai faptul bine cunoscut că germenii proaspăt izolați din organismul bolnav au cu totul alte cerințe nutritive decît cei menținuți în condiții de laborator, pe medii ca bulionul sau geloza. Din această cauză s-a recurs la o serie de medii de izolare speciale, ca mediile cu sînge, medii nutritive cu ou, atmosferă bogată în CO_2 etc.

Scanned with OKEN Scanner

Singura cale rațională pentru obținerea unor astfel de medii este studiul cerințelor nutritive ale microorganismului proaspăt izolat, adaptat la macroorganism.

În microbiologia solului, izolarea bacteriilor pe medii corespunzătoare cerințelor nutritive specifice (mediile selective ale lui Winogradski) a putut duce la o stabilire mai reală a componenței florei microbiene din sol, decît izolarea microbilor pe medii bogate standard, pe care predomină creșterea speciilor mai exigente, cu care speciile adaptate la o nutriție mai săracă, adică tocmai speciile cele mai importante pentru economia substanțelor nutritive din sol, nu pot concura.

În acest capitol vom căuta să descriem cîteva tipuri de interrelații ecologice ale microorganismelor cu mediul ambiant, interrelații care s-au format în cursul evoluției diferitelor specii, în urma procesului de adaptare și selecție.

Dat fiind că unitatea dintre organism și mediu este în primul rînd de natură metabolică, credem că pentru o cunoaștere mai adîncită a adaptărilor specifice la mediul ambiant și deci și a tipurilor ecologice specifice de microorganisme, este necesară în prealabil o expunere succintă a unor aspecte ale metabolismului bacterian, legate de problemele atinse în această lucrare.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL I

ELEMENTE GENERALE ŞI SPECIFICE ALE METABOLISMULUI MICROORGANISMELOR

Orice organism viu posedă, pe lîngă elemente proprii lui şi care nu se găsesc la nici o altă specie sau chiar individ, elemente comune cu alte specii, genuri şi chiar cu toate organismele vii. Dacă primele corespund la condiţii de viaţă specifice, celelalte corespund la condiţii generale, de bază, ale vieţii. După cum am mai amintit, elementele specifice, proprii diferitelor specii şi varietăţi de microorganisme, privesc numai într-o mică măsură morfologia lor, mai ales referindu-se la compoziţia lor chimică (care se manifestă şi printr-o structură antigenică diferită, uşor de decelat) şi în special tipul lor de metabolism.

Scopul acestei lucrări fiind scoaterea în relief a elementelor metabolice specifice legăturilor dintre microorganism şi mediu, este necesară delimitarea lor (desigur artificială) de anumite elemente metabolice comune tuturor organismelor şi indicarea în acelaşi timp a legăturilor strînse care există între aceste două aspecte ale metabolismului microorganismelor.

Prima şi cea mai importantă proprietate comună tuturor organismelor vii este existenţa obligatorie a proteinelor, cu un complex de proprietăţi speciale şi caracteristice.

Afirmaţia lui Fr. Engels că proteina vie constituie baza vieţii, „Oriunde găsim viaţa o găsim legată de un corp albuminos“ (30) [1]), confirmată în mod strălucit de biochimia mo-

[1]) p. 139.

dernă a proteinelor (16), este valabilă în aceeaşi măsură pentru microorganisme, ca şi pentru toate celelalte organisme vegetale şi animale. Proprietăţile fizico-chimice ale proteinelor microbiene sînt identice cu cele ale celorlalte organisme. Analiza cantitativă a proteinelor totale la un număr mare de microorganisme (31), (135), a arătat, între anumite limite, aceleaşi proporţii între diferiţii aminoacizi ca şi în proteinele totale ale ficatului uman sau ale altor ţesuturi animale. La bacterii care fac parte din genuri diferite (Salmonelle, Pseudomonas, Stafilococ, Streptococ etc.), s-au găsit cantităţi mari de acid aspartic, acid glutamic, arginină şi leucină şi cantităţi reduse de triptofan, metionină, glicocol etc. Desigur că există uneori deosebiri importante în ceea ce priveşte conţinutul în aminoacizi al proteinelor la diferitele microorganisme şi mai ales la diferitele fracţiuni proteice ale aceluiaşi microorganism ; totuşi nu conţinutul în aminoacizi este factorul determinant al deosebirilor proteinelor diferitelor microorganisme, ci structura macromoleculară specifică a proteinelor şi complexele pe care acestea le formează, atît cu celelalte proteine din celulă, cît şi cu componentele celulare de natură neproteică. Celelalte componente ale microorganismelor corespund şi ele componentelor principale ale plantelor şi animalelor. La microorganisme găsim aceleaşi elemente minerale ca şi la alte organisme, găsim lipide şi glucide. Totuşi compoziţia lipidelor şi glucidelor bacteriene variază mai mult de la o specie la alta decît compoziţia în aminoacizi a proteinelor (de exemplu, compoziţia specifică în acizi graşi a lipidelor bacilului tuberculos sau compoziţia în monozaharizi şi aminozaharuri a polizaharidelor diferitelor tipuri de pneumococi). Glucidele şi lipidele din corpii bacterieni suferă şi variaţii cantitative mult mai importante, în funcţie de condiţiile de viaţă ale bacteriilor, decît proteinele bacteriene.

O altă trăsătură comună tuturor organismelor este prezenţa la toate speciile de microorganisme a acizilor ribonucleic şi timonucleic, legaţi de proteine, ca şi prezenţa aceloraşi cofermenţi la un număr foarte mare de enzime cu un rol identic, atît la organismele superioare, cît şi la microorganisme.

Trăsătura esenţială a proteinei vii, comună tuturor organismelor vii, nu este însă o anumită compoziţie chimică elementară şi nici o anumită greutate moleculară, ci în primul rînd schimbul de substanţe cu mediul ambiant, metabolismul.

Scanned with OKEN Scanner

Pentru realizarea proceselor metabolice sînt necesare o serie de condiții, care trebuie realizate de către toate organismele. Astfel de condiții sînt : o coordonare în timp și spațiu a proceselor metabolice, existența unor catalizatori care să permită reacții din cele mai diverse la temperatura relativ joasă care există în organism și să le dirijeze în același timp într-un anumit sens, și existența unor compuși chimici sau grupări chimice comune unui număr mare de reacții metabolice diferite. Existența unui aport continuu de energie care să permită realizarea proceselor de sinteză, în marea lor majoritate endoterme, și menținerea stării de echilibru dinamic, caracteristică materiei vii, este încă o trăsătură comună tuturor organismelor vii.

Pentru o mai bună înțelegere a importanței acestor procese generale, proprii tuturor organismelor, care sînt o condiție necesară pentru realizarea adaptărilor specifice la mediul ambiant, vom descrie în cele ce urmează cîteva din aceste procese.

Vom începe cu analiza degradării glucidelor, fenomen care este probabil comun majorității organismelor vii.

La bacterii, procesele de degradare a glucidelor, privite din punctul de vedere al produșilor finali, variază foarte mult. Ca produși finali ai utilizării glucidelor, apar la diferitele specii bacteriene acidul formic, acetic, butiric, lactic, succinic, alcoolul etilic, butanolul, metanul, hidrogenul etc. (unii dintre produșii finali ai fermentațiilor produse de bacterii fiind deosebit de importanți pentru obținerea pe cale industrială a unui număr mare de produse).

Natura substanțelor apărute în mediul de cultură depinde de pH-ul mediului, de prezența sau absența în mediu a unor compuși azotați (Ierusalimski), de vîrsta culturii etc., astfel că în momentul de față nu se poate alcătui o schemă generală a degradării glucidelor de către toate microorganismele. Situația se complică și mai mult, prin faptul că în cursul proceselor de degradare a glucidelor au loc la unele bacterii și procese de fixare de bioxid de carbon și condensări, care duc la formarea unor compuși finali cu greutate moleculară mai mare, cum ar fi acidul succinic, citric ș. a.

În cursul acestor procese care par să decurgă în mod diferit la diversele specii, apar însă și unele reacții comune, cum ar fi cele de fosforilare cu intervenția unor grupări fosfat macroergice ca și produși intermediari comuni tuturor proceselor de degradare a glucidelor (trioze fosforilate și mai ales acid piruvic).

Scanned with OKEN Scanner

Procesele comune din cursul degradării anaerobe a glucidelor (glicolizei anaerobe) fac ca descrierea etapelor principale ale fermentației alcoolice (unde degradarea glucidelor a fost mai bine studiată) să fie într-o anumită măsură valabilă pentru toate bacteriile.

Este caracteristic faptul că la bacterii ca *Acetobacter pasteurianum* și *Acetobacter suboxidans,* la care în mod obișnuit nu apar procese de fermentare anaerobă, apar produși intermediari analogi cu cei din fermentația alcoolică, de îndată ce sînt obligate să acționeze anaerob asupra glucidelor. Etape comune la fenomene atît de diferite ca glicoliza musculară și fermentația anaerobă la levuri, ne arată de asemenea răspîndirea largă a acestor procese.

Unul din principalele procese metabolice comune tuturor organismelor vii și care intervine chiar în primele etape ale glicolizei anaerobe, este fosforilarea. Într o primă etapă, glucoza se combină cu o moleculă de acid fosforic provenit de la acidul adenozintrifosforic, transformîndu-se în glucozo-6-fosfat. Procesul de fosforilare a restului de monozaharid pare un proces obligator, atît pentru scindarea ulterioară a glucidelor, cît și pentru utilizarea lor în cursul sintezei polizaharidelor. La bacterii s-au observat procese de fosforilare în cursul sintezei polizaharidului dextran de către *Leuconostoc mesenteroides,* a polizaharidului levan din fructoză de către *B. subtilis, B. polymixa* și *Aerobacter levanicum,* a zaharozei din glucozo-1-fosfat și zaharoză de către *Pseudomonas saccharophila* etc. Fixarea de grupări fosfat din mediu a fost observată și în decursul diferitelor procese de fermentare a glucidelor. Importanța fosforilării, atît în procesele de glicoliză, cît și în multe alte procese metabolice ale organismelor, explică necesitatea prezenței ionului fosfat în mediul de cultură al tuturor microorganismelor.

Etapele următoare ale glicolizei, pînă la stadiul de acid piruvic, par să fie iarăși identice, cu mici modificări, pentru marea majoritate a microorganismelor. O etapă importantă a acestor transformări, atît în cursul fermentației alcoolice, cît și în cursul glicolizei musculare, este reacția de dehidrogenare a aldehidei 1,3-fosfoglicerice (6) în acid 1,3-fosfogliceric (7), prin intermediul codehidrazei I, proces în cursul căruia este eliberată o cantitate mare de energie. Această energie se acumulează în legătura $-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-O-PO_3H_2$ care se transformă într-o legătură de

tip special $\overset{\diagup\!\!\diagup}{\underset{\diagdown\!\!\diagdown}{C}}\!\!-O \sim PO_3H$ (macroergică) notată prin semnul $\sim$. Gruparea macroergică $\sim PO_3H_2$ este cedată adenozindifosfatului (ADF) care trece în adenozintrifosfat (ATF), principalul transportor de energie din organism.

Codehidraza I şi sistemul ADF—ATF reprezintă şi ei compuşi care se găsesc la toate organismele vii, participînd ca transportori de energie, nu numai în procesele de glicoliză, dar şi în alte procese unde are loc o eliberare de energie.

Acidul piruvic, ultima verigă comună fermentaţiei alcoolice şi glicolizei musculare, este probabil în acelaşi timp şi el o verigă nespecifică importantă în multe fermentaţii bacteriene (fermentaţia lactică, fermentaţiile produse de grupul Enterobacteriaceelor, fermentaţia butrică etc.) (fig. 1).

Plecînd de la acidul piruvic se poate ajunge uşor la acidul acetic, care are un rol important în procesele de sinteză a lipidelor. *E. coli*, de exemplu, realizează această reacţie prin intermediul acidului fosforic provenit de la ATF, dînd ca produşi finali acid acetic şi acid formic $CH_3CO.COOH + H_3PO_4 \rightleftarrows \rightleftarrows CH_3COOPO_3H_2 + HCOOH$.

Acidul piruvic participă în acelaşi timp, după cum vom vedea, în mod direct şi indirect, prin ciclul acizilor tricarbonici, şi la sinteza aminoacizilor.

Deci în cursul proceselor de glicoliză, realizate de bacterii, apar, pe lîngă elemente proprii diferitelor specii bacteriene (care privesc, pe de o parte, oligo- şi monozaharidele ce pot fi utilizate de aceştia şi, pe de altă parte, procesele care duc la apariţia produşilor finali ai metabolismului), şi elemente comune tuturor organismelor. Printre acestea un loc important îl ocupă acidul piruvic, care poate servi ca metabolit comun pentru procesele de sinteză a principalilor compuşi azotaţi, sistemul ADF—ATF care asigură transportul şi acumularea energiei necesare diferitelor procese endoterme din organism şi codehidraza I (difosfopiridin-nucleotid) cu rol de transportor de hidrogen.

Direct legată de degradarea anaerobă a glucidelor este degradarea lor aerobă, care duce la eliberarea unei cantităţi mult mai importante de energie.

Ciclul acizilor tricarbonici (ciclul lui Krebs), principalul sistem de oxidare aerobă a glucidelor, este considerat de B r a u n-

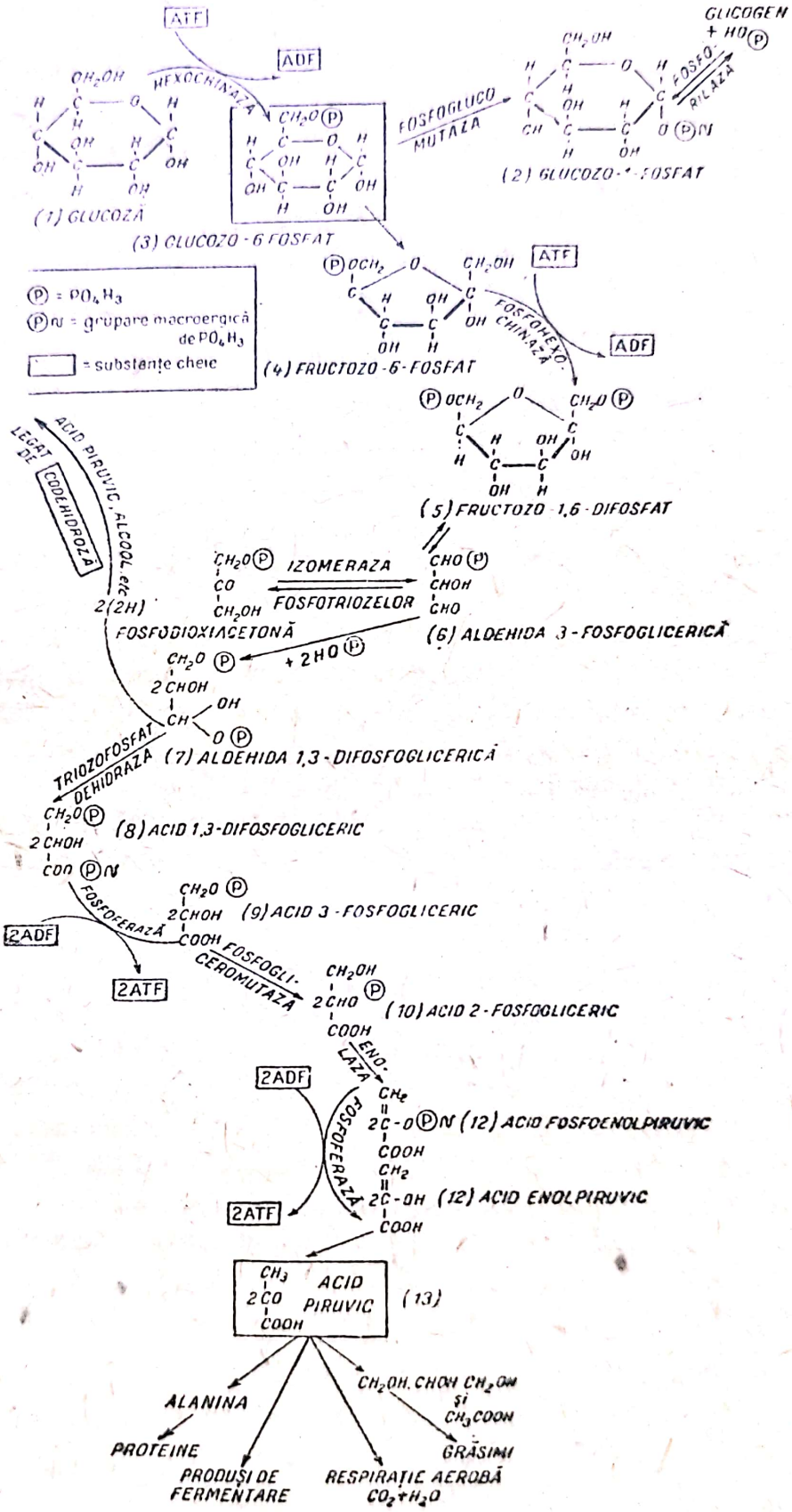


Fig. 1. — Schema fermentației glucidelor (modificată după V. L. Kretovici).

stein ca fiind un sistem foarte important de integrare a metabolismului glucidic, protidic şi lipidic. Dacă ciclul acizilor tricarbonici nu poate fi considerat ca definitiv stabilit în toate etapele sale, pentru diferitele specii de plante, animale şi microorganisme, multe din etapele sale principale au fost găsite

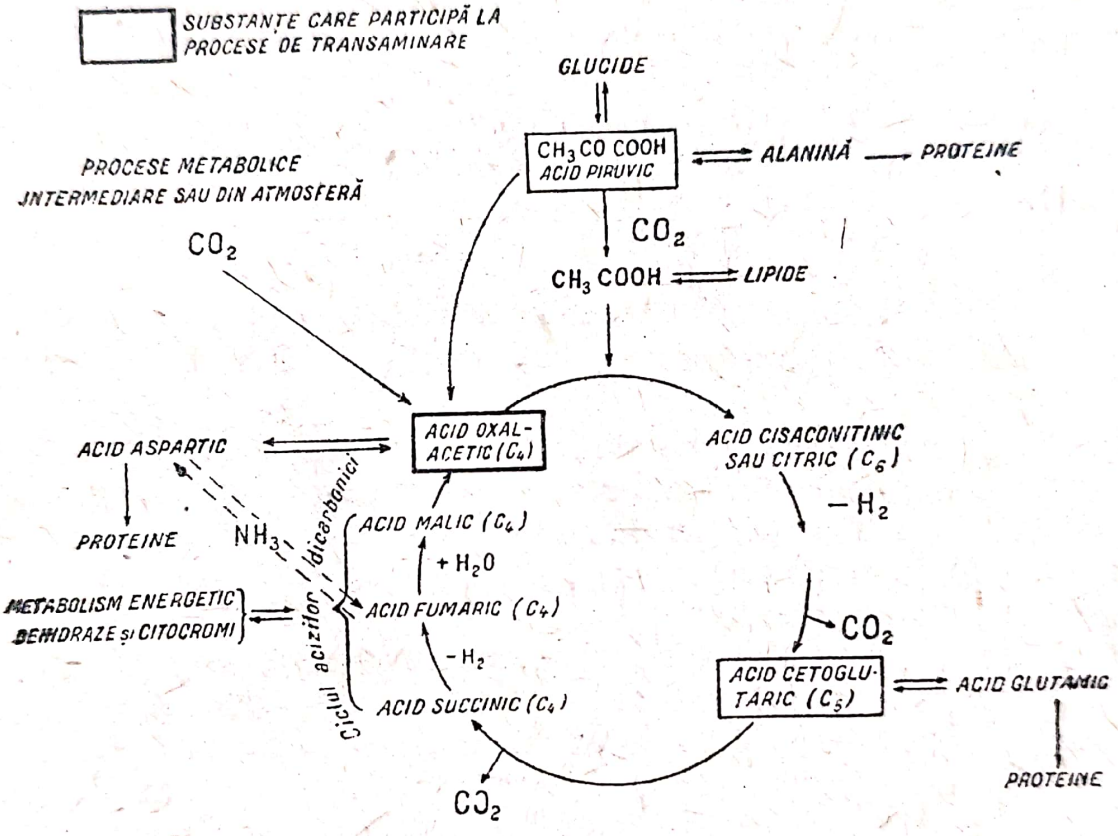


Fig. 2. — Ciclul acizilor tricarbonici (modificat după B. I. Zbarski).

totuşi la cele mai diferite organisme. Este de altfel caracteristic că ideea existenţei acestui ciclu a pornit atît de la cercetări cu privire la formarea de acizi organici de către ciuperci, cît şi de la cercetări făcute cu macerat de muşchi.

Într-o primă etapă a ciclului acizilor tricarbonici, acidul acetic (se pare activat prin fosforilare), provenit din decarboxilarea acidului piruvic, se combină cu o moleculă de acid oxalacetic, dînd o moleculă de acid cisaconitinic. Acesta, printr-o serie de transformări ulterioare (fig. 2), trece, prin eliminarea a încă două molecule de CO_2, iarăşi în acid oxalacetic.

Totuși, sistemul acizilor tricarbonici nu este un ciclu perfect închis, cum părea la început. Diferitele componente ale ciclului, între care și acidul oxalacetic, pot suferi, fiecare în parte, o serie de transformări și pe alte căi (de exemplu la *E. coli* acidul oxalacetic poate trece în acid acetic și acid lactic, iar sub influența bacteriilor propionice, acidul lactic provenit din acidul oxalacetic poate fi degradat în bioxid de carbon și acid acetic).

Refacerea cantităților necesare de acid oxalacetic sau de alți acizi dicarbonici (fumaric, malic, succinic), care intervin în ciclul acizilor tricarbonici, se face în acest caz prin fixarea unei molecule de CO_2 (177), (redus probabil în prealabil în acid formic) la acid piruvic, lactic și alți compuși cu trei atomi de carbon [1]).

$$H_2CO_3 + H_2 \rightarrow HCOOH$$

$$HCOOH + HCH_2CO \cdot COOH \rightarrow CHOH \cdot .CH_2CO \cdot COOH + H_2O$$

$$CHO.CH_2.CO \cdot COOH + O \rightarrow COOH \cdot CH_2CO.COOH$$

Fixarea de CO_2 la trioze și acizi cu trei atomi de carbon, ca și participarea la sinteza altor compuși, cum ar fi purinele, explică nevoia de CO_2 pentru dezvoltarea normală a microorganismelor, arătată pentru prima oară de Lebedev, unele din ele, de exemplu brucellele, cerînd o concentrație destul de mare în CO_2, altele, ca bacilul tuberculos, crescînd mai bine în prezența unei concentrații mărite de CO_2 etc. Cercetările lui Gladstone, Fieldes și Richardson au arătat că *E. coli*, B. tific și stafilococul auriu nu se pot dezvolta în absență completă de bioxid de carbon. Aceste cercetări au fost confirmate ulterior și la alte bacterii, precum și la drojdii și ciuperci. Fixarea de bioxid de carbon din atmosferă a putut fi observată și direct, prin utilizare de carbon marcat (C^{14}), la cele mai diferite bacterii : *E. coli*, Clostridii, streptococi, stafilococi etc.

Cercetări mai recente arată că, dacă în mediul în care se cultivă *E. coli* există acizi dicarbonici, oxalacetic, α-cetoglutaric, aspartic, glutamic, arginină și prolină (adică substanțe legate în mod direct sau indirect de ciclul acizilor tricarbonici), culturile se dezvoltă abundent și în absență de bioxid de carbon, datorită desfășurării normale a ciclului acizilor tricarbonici.

---

[1]) Formarea acizilor dicarbonici nu are loc numai prin fixare de CO_2. La *E. coli*, de exemplu, două molecule de acid acetic se combină pentru a forma o moleculă de acid succinic, care va participa la ciclul acizilor dicarbonici.

Scanned with OKEN Scanner

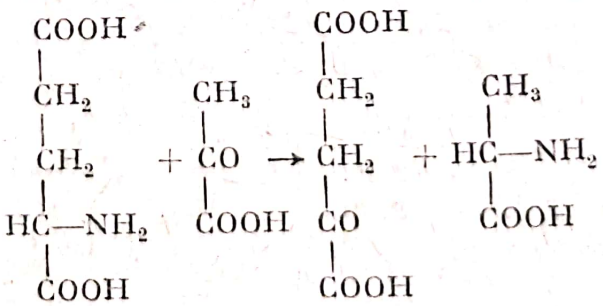
Diferitele etape ale ciclului acizilor tricarbonici au fost găsite la germeni din cei mai diferiți (*Pseudomonas pyocyanea, E coli,* B. tuberculos ș. a.). Utilizarea unor compuși care participă la ciclul acizilor tricarbonici, de către un număr mare de bacterii, indică, de asemenea, răspîndirea largă a acestuia.

Importanța ciclului acizilor tricarbonici nu constă însă numai în degradarea glucidelor pe cale aerobă, dar și în faptul că el cuprinde o serie de compuși cheie, care fac legătura cu metabolismul azotat, prin procese de transaminare (acidul piruvic, acidul oxalactic, acidul α-cetoglutaric și acidul fumaric). În același timp, ciclul lui Krebs cuprinde și unul din principalele sisteme transportoare de hidrogen din organism, ceea ce asigură legătura sa cu celelalte sisteme energetice, sistemul : acid succinic $\overset{\rightarrow}{\underset{\leftarrow}{\rightleftharpoons}} H_2$ acid fumaric $\overset{\rightarrow}{\underset{\leftarrow}{\rightleftharpoons}} H_2O$ acid malic $\overset{\rightarrow}{\underset{\leftarrow}{\rightleftharpoons}} H_2$ acid oxalacetic.

De ciclul acizilor tricarbonici sînt legate și codehidrazele precum și sistemul ADF $\rightleftharpoons$ ATF. Toate aceste fapte justifică importanța ce o acordă E. A. Braunstein (15) acestui sistem central de integrare a metabolismului azotat și carbonat.

O altă reacție centrală a întregului metabolism intermediar, strîns legată de cele cu care ne-am ocupat anterior, fiind considerată puntea de legătură principală între diferiții aminoacizi din organism, este reacția de transaminare, descrisă de E. A. Braunstein și M. G. Kriţman în 1937.

Reacția de transaminare constă în transportul unei grupări aminice (NH_2) de la un α-aminoacid la un α-cetoacid fără o eliberare prealabilă de amoniac. Reacția de transaminare este însoțită și de activarea hidrogenului legat de carbonul din poziția α



La reacțiile de transaminare participă cetoacizii piruvic, oxalacetic și cetoglutaric care fac parte și din ciclul acizilor tricarbonici și aminoacizii alanină, acid glutamic și acid aspartic, din care se consideră că microorganismele aminoautotrofe formează

majoritatea celorlalți aminacizi [1]). În ultimul timp s-a dovedit participarea la transaminare a unui număr mare de alți aminoacizi.

Din cauza vitezei mari cu care decurg procesele de transaminare la bacterii, ele nu au putut fi puse în evidență la început cu metodele obișnuite de lucru. Ulterior, existența transaminării a fost dovedită la un număr mare de bacterii : enterobacteriacee, B. piocianic, *Azotobacter vienelandi*, stafilococi, *Cl. welchii*, streptococi, pneumococi etc.

La microorganisme au fost dovedite pînă acum reacțiile :

Acid glutamic + acid oxalacetic $\rightleftarrows$ acid α-cetoglutaric + acid aspartic și acid glutamic + acid piruvic $\rightleftarrows$ acid α-cetoglutaric + alanină.

Pe lîngă dovezile directe există și nu număr mare de dovezi indirecte, care indică importanța pentru metabolismul bacterian, a aminoacizilor care participă la procesele de transaminare. Dintre aminoacizii utilizați de către o serie de bacterii ca singura sursă de carbon și azot, acidul aspartic și acidul glutamic (respectiv aspargina și glutamina, care sînt ușor formate din acești aminoacizi) asigură cele mai bune condiții de creștere pentru aceste organisme. Cercetări făcute cu azot radioactiv fixat de către *Azotobacter* au arătat că acidul glutamic este acidul aminat, care fixează azotul marcat cu viteza cea mai mare, din primele momente ale pătrunderii sale în celulă.

Datele sumare expuse pînă acum ne arată existența unor importante verigi de legătură între metabolismul glucidelor, lipidelor și protidelor, comune tuturor organismelor vii, care permit reglarea continuă a metabolismului celular.

O altă verigă importantă a metabolismului, comună tuturor organismelor, este reprezentată de un grup de substanțe mai complexe decît cele descrise pînă acum, mai greu de sintetizat, care constituie deseori grupările prostetice ale unor proteine complexe cu rol de fermenți. Acești compuși, de care ne vom ocupa mai pe larg într-un alt capitol al lucrării, au căpătat în cursul evoluției diferitelor specii, funcțiuni multiple, caracter care îi apropie într-o anumită măsură de compușii celulari mai

---

[1]) Pe lîngă reacțiile de transaminare, un rol important în sinteza aminoacizilor îi revine și fixării directe a grupării NH_3 de către α-oxiacizi și α-cetoacizi, studiată la bacterii cu ajutorul metodei izotopilor radioactivi, mai ales de Kriț-man și colaboratorii săi (110).

simpli cu funcțiuni multiple, ca acidul piruvic sau gruparea acetat.

Un grup important dintre acești compuși este format de derivații porfirinici care au un atom de Fe sau de alt metal în molecula lor și care sînt mai mult sau mai puțin labil legați de o proteină specifică.

Enzime cu nucleu porfirinic găsim aproape peste tot unde întîlnim procese de respirație aerobă. Pe bază de porfirine se formează grupările prostetice ale catalazei, peroxidazei și citocromilor. Ele sînt în linii mari identice la toate organismele aerobe. Necesitatea prezenței în celulă a acestor cofermenți porfirinici care conțin Fe, explică și cerințele în Fe ale microorganismelor.

Cercetări făcute pe medii purificate în mod special de orice urmă de Fe, au arătat o reducere considerabilă a enzimelor respiratorii care conțin Fe (citocromi, oxidază, catalază etc.).

Participarea compușilor care conțin nucleul porfirinic la procesele de respirație aerobă a bacteriilor explică și faptul că pentru unele bacterii hemina (factorul x) este un factor de creștere obligator în condiții aerobe și nu mai este indispensabil în condiții anaerobe.

Compușii porfirinici pot participa la procese foarte diferite, cum ar fi dehidrogenarea acidului formic de către *E. coli* sau fotoreducerea bioxidului de carbon la plante și bacterii prin intermediul clorofilei și a bacterioclorofilei. Cicluri pirolice identice cu cele care intră în constituția porfirinei fac parte și din molecula de prodigiozină sintetizată de către *Serratia marcescens*.

Mai există și alți produși complecși la fel de polivalenți în privința funcțiunilor lor celulare, ca și porfirinele. Adenina, de exemplu (o purină care intră în compoziția nucleoproteinelor), este sub formă de acid adenozintrifosforic principalul transportor de grupări fosfat-macroergice din organism, fiind în același timp și o componentă importantă a codehidrazei I și II și a fermenților galbeni. Existența acestor grupări comune de adenină permite utilizarea lor mult mai rațională [1]).

Dintre multiplele exemple care s-ar mai putea aduce în această privință, amintim numai că vitamina B_6, una din coenzimele

---

[1]) La levuri s-a descris și trecerea adeninei din acidul ribonucleic în ATF și codehidrazele I și II.

principale care intervin în metabolismul aminoacizilor, participă la cel puțin 15 reacții fermentative diferite, cum ar fi reacțiile de transaminare, decarboxilare a aminoacizilor, formarea indolului din triptofan, formarea de hidrogen sulfurat din cisteină etc.

În același timp se observă totuși și o anumită specializare a coenzimelor față de substrat. Unul din exemplele cele mai elocvente în această privință îl constituie legătura dintre acidul piruvic și vitamina B_1 (tiamina). În celula de drojdie ea are rolul de codecarboxilază, în țesutul nervos ea are mai ales rolul de dehidrază a acidului piruvic, iar la *E. coli* catalizează în prezența ionului Mg transformarea acidului piruvic în acid acetic și acid formic. Probabil că vitamina B_1 participă simultan în aceeași celulă la diferite transformări ale acidului piruvic.

Pe lîngă moleculele organice amintite, mai mult sau mai puțin complexe, cum ar fi acidul piruvic sau glutamic, care reprezintă puncte de legătură ale metabolismului intermediar, și compușii organici cu rol de coenzime, mai există în fiecare celulă și un număr de radicali organici și anorganici, transportați în orice moment spre cei mai diferiți compuși (CH_3, grupări SH și PO_4H_3), care asigură și ei adaptarea continuă a metabolismului la condițiile mediului.

Rolul diferiților compuși cheie ai metabolismului a putut fi demonstrat în modul cel mai evident cu ajutorul izotopilor radioactivi. Aceste cercetări au arătat, mai ales în cazul proteinelor, reînoirea continuă a componentelor macromoleculei proteice. Materialul de construcție necesar atît pentru această reînnoire continuă a proteinelor, cît și a celorlalte componente celulare, este dat tocmai de compușii și radicalii „cheie“ despre care am amintit și care după Schönheimer constituie „fondul metabolic“ al acestor procese dinamice [1]) (15).

---

[1]) Starea dinamică a proteinelor nu se referă numai la compoziția lor, ci și la forma lor, care după Talmud (194) și Bressler (18) este influențată de echilibrul dinamic dintre grupările hidrofobe nepolare din moleculă, care tind să-i dea o formă globulară ideală și grupările hidrofile de pe suprafața moleculei, care tind s-o lungească prin respingerea reciprocă a grupărilor polare încărcate cu o sarcină electrică identică. Compoziția mediului poate schimba raportul dintre grupările polare și nepolare din moleculă. Această teorie explică în mod satisfăcător includerea și eliminarea continuă a diferiților aminoacizi în macromolecula proteică, fără distrugerea integrității structurale a acesteia.

Scanned with OKEN Scanner

Existenţa acestui schimb continuu de componente ale diferitelor sisteme metabolice face să nu se poată vorbi despre metabolism glucidic, lipidic sau protidic ca atare, fără a se ţine seama de interrelaţiile continuu dintre ele şi de schimbul de substanţe cu mediul ambiant.

O altă problemă deosebit de importantă este cea a coordonării în timp şi spaţiu a proceselor metabolice. Într-adevăr, dacă toate enzimele care se pot extrage dintr-o celulă ar acţiona simultan asupra substratelor respective, care de cele mai multe ori există în celule, s-ar produce un adevărat haos de reacţii chimice. În afară de aceasta, în celulă, mai ales în cea tînără, predomină în primul rînd procese de sinteză, care *in vitro* nu se realizează decît în condiţii cu totul speciale. În celulă trebuie deci să existe mecanisme speciale pentru activarea şi oprirea proceselor enzimatice, după nevoile organismului viu.

O contribuţie importantă la rezolvarea acestei probleme a fost adusă de cercetările şcolii lui A. Oparin (Kursanov, Sisakian, Rubin ş. a.). Ei au arătat importanţa deosebită a structurilor celulare pentru reglarea proceselor enzimatice din celulă şi în special a celor de hidroliză şi sinteză. Aceste cercetări au arătat că adsorbţia enzimelor pe structurile celulare opreşte procesele de hidroliză şi favorizează pe cele de sinteză, iar eluţia lor duce la apariţia unor procese de hidroliză. Ele au arătat în acelaşi timp, importanţa apropierii şi separării spaţiale a enzimei de substrat, precum şi importanţa proceselor energetice ce au loc la nivelul structurilor celulare. Prin demonstrarea deosebirilor dintre reacţiile enzimatice *in vitro* şi *in vivo*, aceste cercetări au contribuit la crearea unui nou domeniu al enzimologiei, cel al „biologiei fermenţilor în celula vie“ [1]) (116), (162), (183).

Cercetări ulterioare făcute în diferite laboratoare (63) au arătat şi ele importanţa biologică a structurilor celulare. Prin metode de centrifugare fracţionată, în cursul cărora protoplasma nestructurată, nucleul, mitocondriile şi microzomii se depun în straturi separate, s-a constatat că o serie de procese centrale

[1]) Desigur că reglarea proceselor metabolice cu ajutorul structurilor celulare priveşte numai un singur aspect al proceselor de coordonare a metabolismului. În coordonarea proceselor biochimice mai intervine şi reglarea nervoasă, hormonală, autocataliza proteinelor şi alte mecanisme, la animalele superioare reglarea nervoasă fiind probabil aceea care dirijează modificările structurilor celulare.

ale metabolismului celular sînt localizate în mitocondrii. La nivelul mitocondriilor sînt localizaţi ciclul acizilor tricarbonici, procese de fosforilare ce decurg cu ajutorul grupărilor fosfat-macroergice, procese de oxido-reducere şi o serie de reacţii metabolice cheie, care asigură legătura cu sistemul citocromilor, transaminarea, ciclul ornitinic etc.

Una din funcţiunile cele mai importante ale structurilor celulare pare însă sinteza proteinelor celulare [1]). După datele cunoscute pînă în prezent, se crede că acidul ribonucleic, care se găseşte în cantităţi mari în mitocondrii, este un factor important în biosinteza proteinelor celulare. Acidul ribonucleic determină pe de o parte, conform structurii sale specifice, aşezarea aminoacizilor în lanţul polipeptidic al proteinei, iar pe de altă parte, el asigură, prin intermediul grupărilor macroergice de fosfat pe care le primeşte de la ATF, nivelul energetic necesar pentru sinteza şi desorbţia proteinelor formate (18). În mitocondrii se reunesc deci procese relativ puţin specifice, cum ar fi ciclul acizilor tricarbonici şi transportul grupărilor fosfat de către ATF, cu funcţiuni celulare foarte specifice, cum este sinteza proteinelor.

Rolul important al acidului ribonucleic în sinteza proteinelor celulare reiese şi din faptul că el se găseşte în cantitate maximă în ţesuturile în care au loc procese de creştere rapidă, ţesutul embrionar, tumori etc. În această privinţă, microorganismele se comportă la fel cu toate celelalte organisme. Bacteriile din culturile tinere, la care are loc o sintetizare activă de proteine, sînt mult mai bogate în acid ribonucleic decît cele din culturile bătrîne. Bogăţia mai mare în acid ribonucleic explică şi bazofilia mai pronunţată a culturilor tinere, care se datoreşte grupărilor acide de fosfat din molecula de acid ribonucleic [2]).

Rolul structurilor protoplasmatice în metabolismul diferitelor specii de microorganisme a fost studiat mai ales la levuri. Astfel, Malkov (128) a arătat că sinteza şi hidroliza pirofosfaţi-

---

[1]) Cercetări recente (Kursanov) au arătat şi posibilitatea sintezei biologice a proteinei în afara celulei. Aceste cercetări nu au precizat încă dacă sinteza proteinelor este posibilă şi în absenţa unor structuri celulare.

[2]) Spiegelman şi Kamen au putut observa la levuri, în cursul sintezei de proteine noi, trecerea fosforului marcat din mediul de cultură în celule, unde el este fixat de acidul ribonucleic, iar Bresler şi colaboratori au putut pune în evidenţă *in vitro*, fixarea fosforului marcat de către acidul ribonucleic, lucrînd cu preparate de acid ribonucleic şi ATF.

lor depind de pH, de potenţialul de oxido-reducere, dar mai ales de integritatea celulei de levură, obţinindu-se rezultate cu totul diferite cu celula intactă şi cu cea parţial autolizată. Deosebit de importante, în această privinţă, sînt cercetările lui Maisel (131), (132), cu privire la legătura dintre structurile celulare şi procesele metabolice din celula de levură, cercetări asupra cărora vom mai reveni. Maisel a arătat între altele că blocarea cu berberină a condriomului duce la inhibiţia proceselor de respiraţie şi nu influenţează pe cel de glicoliză. Cu ajutorul unor fluorocromi, el a mai putut urmări procese intense de oxido-reducere, localizate pe suprafaţa condriomului şi modificările paralele ale formării structurilor celulare şi ale proceselor biochimice, în diferite stări fiziologice ale celulei. Maisel şi colaboratori au observat modificări morfologice deosebit de profunde în urma trecerii levurilor de la aerobioză la anaerobioză sau în urma schimbării raportului dintre concentraţia de biotină şi de tiamină din mediu etc.

Aceste cercetări ale lui Maisel au arătat că structurile celulare nu sînt un sistem rigid de coordonare spaţială, ci că ele se modifică în funcţie de mediul ambiant.

Lucrările lui Maisel permit să se presupună modificări la fel de importante ale structurilor fine în funcţie de mediu şi la alte microorganisme. La bacterii, unde structurile citologice fine sînt foarte greu de studiat, legătura dintre structurile celulare şi fiziologia lor nu este aproape de loc cunoscută, cu toate că există unele indicaţii cu privire la modificări în funcţie de condiţiile de viaţă, nu numai ale celulei bacteriene în totalitatea ei, dar şi ale structurilor sale interne (72), (75). La bacterii acest lucru devine şi mai important, prin faptul că el poate contribui la rezolvarea problemei genezei formelor filtrabile şi a legăturii dintre formele celulare şi acelulare.

Un ultim aspect comun metabolismului microorganismelor şi organismelor pluricelulare, pe care îl vom analiza, este cel al proceselor energetice cu ajutorul cărora se asigură creşterea şi reînnoirea organismului şi chiar existenţa proteinei vii, care necesită un aport continuu de energie. Pentru a putea aprecia importanţa proceselor energetice pentru organismul microbian, amintim că aproximativ 80—90% din hrană este utilizată de acesta pentru scopuri energetice şi numai 10—20% pentru metabolismul plastic de creştere şi reînnoire.

Procesele energetice din organism decurg prin intermediul unor reacţii de oxido-reducere catalizate enzimatic [1]).

Reacţiile de oxido-reducere sînt procese de transport de electroni, substanţa care primeşte electronii fiind redusă şi cea care cedează electronii, oxidată. Procesele de oxidare şi reducere sînt strîns legate între ele, astfel că orice proces energetic din organism presupune o substanţă care este oxidată şi una care este redusă. În cadrul proceselor de oxido-reducere din organism, oxigenul nu este singura substanţă care poate capta electroni, oxidînd prin aceasta substanţa care cedează electroni, ci orice compus capabil să capteze electroni în condiţii biologice poate căpăta rolul de oxidant. Prin aceasta dispare deosebirea esenţială dintre respiraţia aerobă (prin intermediul oxigenului atmosferic) şi cea anaerobă, cu alţi acceptori de electroni decît oxigenul atmosferic.

Cel mai frecvent proces prin intermediul căruia energia de ardere a substanţelor care pătrund în organism sau care rezultă din procesele de metabolism intermediar este transformată în forme de energie accesibile organismului, este dehidrogenarea (34).

În urma procesului de dehidrogenare, substratul este oxidat prin pierdere de electroni, cedînd în acelaşi timp 2 atomi de hidrogen sub formă de protoni.

$$R\begin{matrix}H\\H\end{matrix} \rightarrow R + 2H^+ + 2e^-.$$

Procesele de dehidrogenare sînt foarte specifice, fiecare organism avînd un complex de dehidraze perfect adaptat condiţiilor sale de viaţă. Specificitatea faţă de substrat se datoreşte componentei proteice a fermentului, apodehidraza. Codehidrazele, foarte labil legate de apofermenţi şi servind ca transportori nespecifici de hidrogen între cele mai diferite apoenzime, sînt în linii mari aceleaşi, atît la microorganisme, cît şi la organismele pluricelulare, ele reducîndu-se la un număr foarte limitat de compuşi chimici. Coenzima malicodehidrazei la levuri poate înlocui, de exemplu, complet, atît codehidraza respectivă din ficat, cît şi pe cea de la bacterii, iar la *Hemophilus parainfluenzae* lipsa codehidrazei (factorului V) din mediul de cultură, care duce la o scădere pronunţată a activităţii dehidrazice a bacteriei, poate fi suplinită prin codehidraza I extrasă din levuri.

Cei mai des întîlniţi compuşi cu activitate codehidrazică sînt codehidraza I şi II (difosfopiridinnucleotid şi trifosfopiridinnucleotid) şi cofermenţii flavinici din fermenţii galbeni. Este de remarcat faptul că molecula codehidrazelor I şi II conţine adenină, riboză şi acid fosforic, elemente comune cu acidul ribonucleic şi ADF-ATF, iar cofermenţii flavinici din fermentul galben

---

[1]) Uneori microorganismele pot cîştiga energie şi în urma unei reacţii chimice secundare care urmează reacţiilor de hidroliză. De exemplu, *Micrococcus ureae* descompune ureea hidrolitic după reacţia

$$O = C\begin{matrix}NH_2\\NH_2\end{matrix} + H_2O \rightarrow CO_2 + 2\,NH_3.$$

Bioxidul de carbon se combină cu amoniacul, cu eliberare de energie:

$$CO_2 + 2\,NH_3 + H_2O \rightarrow CO_3(NH_4)_2 + 12\ cal.$$

conţin şi ei (în cazul fermentului galben nou) adenină, riboză şi acid fosforic. Aceste asemănări structurale apropie şi mai mult diferitele sisteme coenzimatice de transport şi acumulare de energie din organism.

În prezenţa apofermentului şi a substratului specific, codehidrazele I şi II şi fermentul galben pot realiza foarte rapid fixarea şi eliberarea de protoni de hidrogen şi de electroni, ceea ce asigură un transport intens şi continuu al acestora. Hidrogenul şi electronii sînt cedaţi mai departe unor substrate care sînt reduse. Cazul cel mai simplu este acela în care 2 electroni sînt cedaţi unei molecule de oxigen, care poate astfel reacţiona cu 2 atomi de hidrogen încărcaţi pozitiv, formînd apă oxigenată. Acest proces este puţin economic din punct de vedere energetic, ducînd la eliberarea imediată a întregii cantităţi de energie. La *Pseudomonas aeruginoza* şi *Proteus vulgaris*, oxidarea α-aminoacizilor (unde elementul principal pare cel de detoxifiere şi nu de utilizare a energiei liberate) se face prin transportul direct al hidrogenului de la dehidraze spre oxigenul atmosferic.

Majoritatea proceselor de oxido-reducere prezintă însă un şir mai lung de verigi intermediare, care permit eliberarea gradată a energiei. În cazul proceselor aerobe, transportul de electroni şi de hidrogen de la dehidrazele primare se face cu ajutorul unor enzime cu rol de transportor intermediar de hidrogen, numite diaforaze, care în majoritatea cazurilor par a avea coenzime de natură flavinică. Ele au fost găsite şi la bacterii, la *E. coli*, *B. proteus* şi *B. subtilis* la care coenzimele diaforazelor sînt de asemenea compuşi de natură flavinică.

De la diaforaze, electronii trec în sistemul citocromilor (enzime în care Fe legat de un nucleu porfirinic se reduce şi se reoxidează uşor $Fe^{+++} + e \rightarrow Fe^{++}$), realizîndu-se astfel transportul lor spre citocromoxidază, iar hidrogenul încărcat pozitiv se combină cu oxigenul activat de către citocromoxidază, formînd o moleculă de apă. La bacteriile strict aerobe s-au găsit citocromi cu spectre de absorbţie foarte apropiate de cele ale citocromilor din celulele animale, precum şi citocromoxidază (*B. subtilis*, B. cărbunos, B. tuberculos, sarcine etc.)

Existenţa acestui sistem de transportori intermediari de electroni şi hidrogen, care în realitate este mult mai complex decît sistemul schematic expus aici, asigură pe de o parte o eliberare gradată a energiei formate şi, pe de altă parte, oferă posibilităţi multiple de influenţare a respiraţiei celulare. El asigură un aflux de energie continuu şi în acelaşi timp fin gradat, de la procesele exoterme spre cele endoterme.

Etapele principale ale acestor procese, ca şi natura fermenţilor care intervin în ele prezintă de asemenea multe elemente comune la toate organismele vii.

La toate bacteriile, chiar şi la cele strict aerobe, există însă şi un transport direct de hidrogen de la diaforaze spre oxigen, transport care reprezintă probabil un proces mai vechi din punct de vedere filogenetic.

Astfel, s-a stabilit că fermenţii flavinici pot să reacţioneze într-o anumită măsură şi cu oxigenul atmosferic (reacţia se produce însă mult mai încet decît prin sistemul citocromic), iar la unii anaerobi facultativi, adaptaţi probabil secundar la aerobioză ca *B. delbrückii*, de exemplu), respiraţia aerobă se face numai prin intermediul enzimelor flavinice.

Respiraţia multor microorganisme se deosebeşte de tipul de respiraţie aerobă descris, obligator pentru animale şi plantele

superioare, prin faptul că procesele anaerobe pot constitui singura lor sursă de energie. Pentru unele din ele (microorganismele obligator anaerobe) oxigenul atmosferic este chiar toxic.

Procese de oxido-reducere anaerobe, în care acceptorul de hidrogen și electroni este un alt compus decît oxigenul atmosferic, există și la toate organismele aerobe, ele ocupînd un loc deosebit de important în metabolismul lor energetic. La aceste reacții nu participă enzime cu grupări prostetice de tip porfirinic, care conțin Fe, ci mai ales enzime cu grupări prostetice transportoare de hidrogen (codehidrazele I și II, coenzime de tip flavinic). Procesul de glicoliză musculară, sau cel de dezaminare reductivă a aminoacizilor, sînt procese strict anaerobe. Reacțiile de oxido-reducere de tipul Canizzaro, oxidarea acidului succinic în fumaric, a cisteinei în cistină etc., sînt procese care se întîlnesc la toate organismele vii. De altfel, aproape toate procesele de respirație aerobă au o fază anaerobă (transportul intermediar de hidrogen și electroni pînă la citocromi, respectiv pînă la oxigenul atmosferic).

În cele ce urmează, redăm în mod schematic legătura dintre procesele anaerobe și cele aerobe (fig. 3).

Răspîndirea largă a fenomenelor de oxido-reducere anaerobă la organismele aerobe dovedește că dehidrogenarea anaerobă face parte dintre procesele metabolice cele mai generale ale organismelor vii.

Ceea ce deosebește însă grupul important al microorganismelor anaerobe de organismele aerobe, este folosirea de către anaerobi în cursul acestor procese, în esență comune tuturor organismelor, a altor acceptori de electroni și hidrogen decît oxigenul atmosferic, pentru satisfacerea tuturor nevoilor lor energetice. În același timp, la organismele anaerobe are loc adesea și o lărgire a gamei de substanțe, care pot servi ca acceptori și donori de hidrogen (substanțe organice, reducerea NO_3, SO_4 CO_2 etc. [1]), iar la anaerobi facultativi, în urma trecerii spre anaerobioză, se observă o sărăcire în citocromi, care se manifestă și prin

[1]) Unitatea dintre respirația aerobă și cea anaerobă este indicată și printr-un mare număr de forme de trecere între aceste două mecanisme de respirație. Diferite bacterii pot utiliza în locul oxigenului atmosferic, oxigenul din compușii anorganici, săruri de NO_3, SO_4, SeO_3, TeO_3 etc., care conțin oxigen; în timp ce utilizarea de SeO_3 nu poate asigura respirația anaerobă, reducerea nitraților și a sulfaților o asigură la un număr mare de bacterii etc.

apariţia de porfirine în mediul de cultură şi o îmbogăţire în fermenţi flavinici.

Deşi în aceste condiţii energia substanţelor oxidate este utilizată mai puţin economic [1]), totuşi, adaptarea la anaerobioză are o importanţă biologică deosebită pentru speciile respective, din cauză că multe specii concurente nu se pot dezvolta în condiţii anaerobe.

Ceea ce este deci comun tuturor proceselor de respiraţie sînt anumite mecanisme de oxido-reducere legate de funcţiuni coenzimatice identice, cea mai largă răspîndire avînd-o procesele de dehidrogenare anaerobă. Aceste mecanisme comune sînt utilizate pentru oxidarea celor mai diferiţi compuşi, conform cerinţelor specifice ale fiecărei specii în parte.

Datele expuse pînă acum nu reprezintă desigur o schemă generală a metabolismului avînd o valabilitate universală, ci numai indicarea parţială a cadrului comun în care decurge metabolismul la diferitele organisme vii, cadru comun ce s-a impus, pe de o parte, prin existenţa unor condiţii necesare pentru desfăşurarea oricărui proces metabolic şi, pe de altă parte, datorită legăturii filogenetice a organismelor vii. Dintre faptele expuse, unele, ca de exemplu necesitatea sintezei proteinei sau existenţa dehidrogenazelor, au o răspîndire generală. Altele, cum ar fi ciclul acizilor tricarbonici sau legătura unor procese fiziologice cu anumite structuri celulare (de exemplu mitocondriile), au probabil o valoare mai limitată. Posibilităţile de generalizare a interpretării unor procese metabolice se reduc şi mai mult prin faptul că multe procese, comune în linii mari, prezintă variaţii destul de importante de la o specie la alta, precum şi în urma existenţei (uneori numai potenţială) a mai multor mecanisme fiziologice paralele.

Însă chiar şi cele mai generale mecanisme, cum ar fi biosinteza proteinei vii, rămîn o ficţiune dacă nu sînt strîns legate de condiţiile concrete de viaţă ale organismului respectiv. Nu

---

[1]) Randamentele energetice ale formării aerobe şi anaerobe a acidului piruvic din acid lactic sînt următoarele:

Aerob: $CH_3CHOH \cdot COOH + 1/2\ O_2 \rightarrow CH_3 \cdot CO \cdot COOH + H_2O + 51{,}9$ cal.
(Acid lactic → Acid piruvic)

Anaerob: $CH_3 \cdot CHOH \cdot COOH + COOH \cdot CH = CH \cdot COOH \rightarrow$
(Acid lactic; Acid fumaric)

$\rightarrow CH_3CO \cdot COOH + CHOH \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot COOH + 16$ cal.
(Acid piruvic; Acid succinic)

există nici dehidraze ca atare și nici procese de biosinteză în sine, ci numai dehidraze legate în mod specific de un anumit

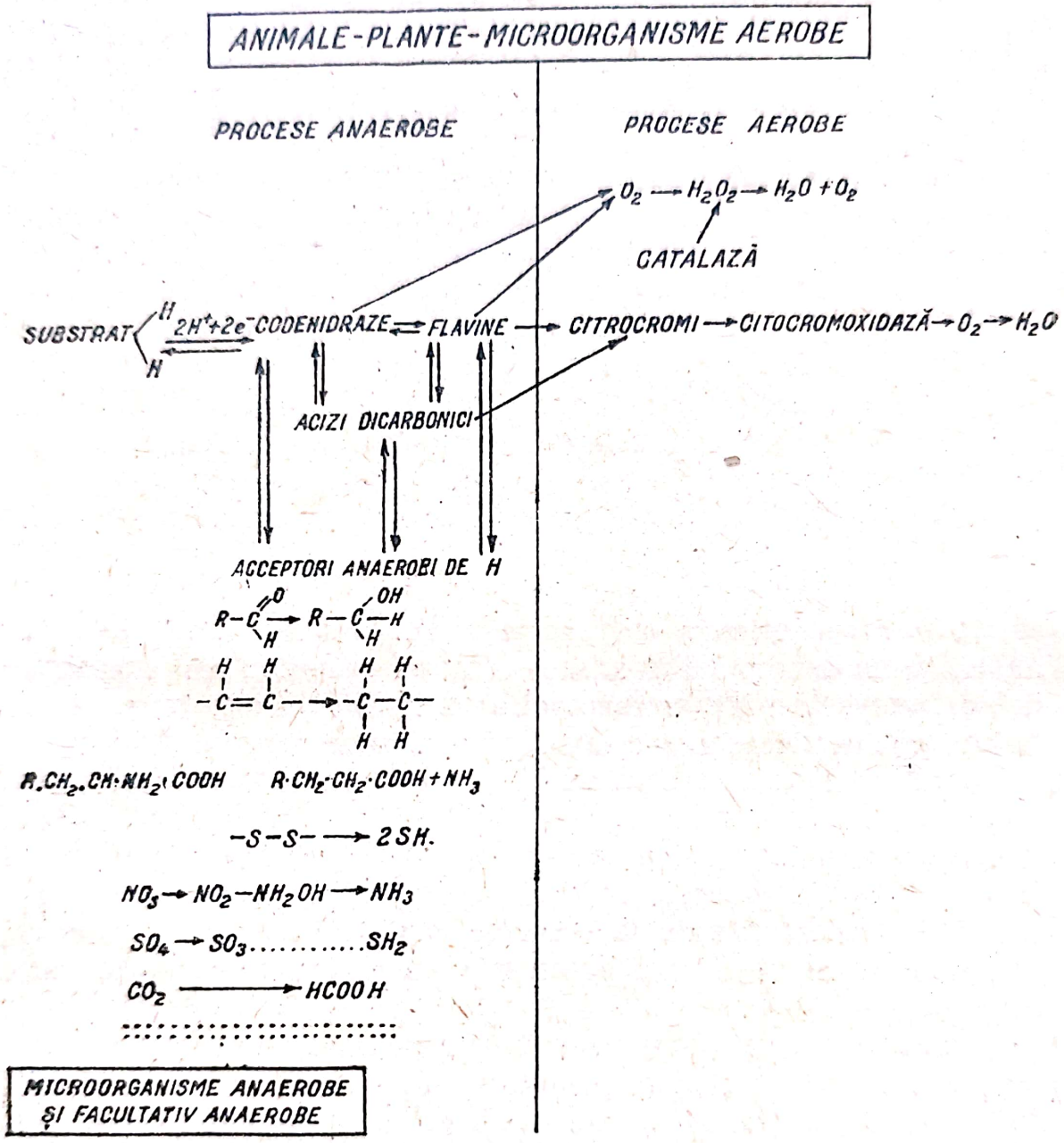


Fig. 3. Legătura dintre respirația anaerobă și aerobă.

substrat și numai proteine sintetizate de anumite endoproteaze în anumite condiții ale mediului ambiant.

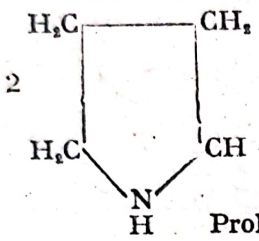
Ca o exemplificare a legăturii strînse dintre aspectele generale și cele specifice ale metabolismului microorganismelor, vom expune pe scurt cîteva

date cu privire la procesele de dehidrogenerare la clostridii, știind că mecanismul procesului de dehidrogenare este în linii mari identic la toate organismele vii.

La *Clostridium sporogenes*, o bacterie anaerobă care trăiește într-un mediu bogat în aminoacizi și proteine, apar un număr mare de dehidraze specifice față de diferiți aminoacizi, care sînt utilizați de către această bacterie atît în scop energetic, cît și pentru metabolismul său plastic. La acest germen s-a elaborat în legătură cu adaptarea la utilizarea anaerobă a aminoacizilor un tip special de oxido-reducere (reacția Stickland) însoțită de o eliberare de NH_3 și CO_2, unde atît acceptorul, cît și donorul de hidrogen sînt aminoacizi.

$$CH_3CHNH \cdot COOH + 2\ H_2O = 4\ H + CH_4 \cdot COOH + NH_3 + CO_2$$

Alanină



$$2 + CH - COOH + 4\ H = 2\ CH_3NH_2CH_2CH_2CH_2COOH$$

Prolină — Acid α-aminovalerianic

În schimb la *Clostridium sporogenes* lipsesc un număr mare de dehidraze, care există de exemplu la *E. coli* deși codehidrazele sînt comune la ambele microorganisme.

La alte specii din genul *Clostridium*, de exemplu la *Clostridium welchii* sau *Clostridium tetanomorphum*, care oxidează și ei anaerob aminoacizii în CO_2, NH_3 și H_2, lipsește reacția Stickland, iar la alți reprezentanți ai acestui grup, cum ar fi *Cl. pasteurianum*, adaptat la fixarea azotului atmosferic, lipsesc o bună parte din dehidrazele active față de aminoacizi.

Deci chiar în același grup restrîns de microorganisme avînd o serie de trăsături metabolice comune, din care cel mai important este caracterul lor strict anaerob, găsim deosebiri foarte mari în privința specificității de substrat a dehidrazelor, determinate de tipul de metabolism al speciilor respective. Totuși, în toate aceste procese participă același tip de codehidraze comune tuturor organismelor vii.

Deși aspectele generale și cele specifice ale metabolismului sînt într-o strînsă legătură, totuși, unele elemente ale sale sînt mai direct legate de mediul ambiant, suferind mai ușor modificări în funcție de acesta, pe cînd altele se modifică mai greu. Aceste modificări în funcție de mediu, care se datoresc unor factori ce se întîlnesc foarte frecvent (anaerobioză, hrană mai bogată sau mai săracă în factori de creștere, parazitizm sau simbioză cu plante și animale etc.) și care au avut o influență mare asupra unor specii diferite, au dus la tipuri de metabolism foarte asemănătoare, la cele mai diferite microorganisme. Acest fenomen de convergență a caracterelor va constitui tema principală a expunerii ulterioare ; în această parte a lucrării, ne vom ocupa numai de redarea cîtorva aspecte generale ale adaptărilor metabolice specifice față de mediul ambiant.

Scanned with OKEN Scanner

La baza relațiilor specifice ale microorganismelor cu mediul ambiant stă sinteza proteinelor, în special a celor cu rol catalitic, care determină modificările tuturor celorlalte componente ale corpului microbian.

Formarea enzimelor adaptative, care constituie adesea prima etapă pentru fixarea ereditară a unor procese metabolice noi, este direct legată de un aport de azot, fie din mediul extern, fie din mediul intern. Adaptările metabolice au loc mai ales la culturi tinere, la care există procese intense de biosinteză a proteinelor, fapt indicat și de cantitatea mare de acid ribonucleic din celulele lor.

Specificitatea proteinelor fiecărei specii microbiene este indicată și pe cale serologică, precum și de faptul că endoproteazele, care au probabil un rol important în sinteza și scindarea proteinelor, sînt mai active față de proteinele extrase din germenii respectivi decît față de proteine străine, și, după unii autori, provoacă autoliza numai a corpilor microbieni proveniți din aceeași specie.

Între funcțiunile metabolice apărute în cursul filogeniei diferitelor specii microbiene, în urma adaptării proceselor de sinteză a proteinelor la modificarea condițiilor de viață, un rol deosebit de important îl au cele legate în mod direct sau indirect de nutriție.

După cum am mai amintit, microorganismele pot să utilizeze substanțe organice din cele mai diferite, astfel că practic nu există substanță organică, care să nu fie atacată de microorganisme. Pe lîngă această multilateralitate a microorganismelor văzute în ansamblu, găsim deseori o specializare strictă a lor, atît în privința surselor de hrană, cît și în privința căilor de metabolizare a substanțelor respective.

Majoritatea bacteriilor chemosintetizante prezintă o specializare strictă față de anumite surse de substanțe anorganice, amoniac, nitriți, hidrogen sulfurat, tiosulfat, fier etc. Aceeași specializare strictă o găsim deseori la bacteriile patogene, față de constituenții organismului-gazdă și chiar față de anumite țesuturi ale acestuia, pe care le atacă în mod electiv.

Față de substanțe carbonate există uneori de asemenea preferințe specifice, atunci cînd ele sînt date în amestec. Cercetările lui Butkevici au arătat că unele actinomicete utilizează dintr-un amestec de 8% glucoză și 92% glicerină, o cantitate mult mai mare de glucoză decît de glicerină, pe cînd din amestecul acetat + glucoză este preferat acetatul. Și în amestecuri

ale altor substanţe se constată aceleaşi preferinţe nespecifice (într-un amestec de părţi egale de glucoză şi acid citric se utilizează 0,5% acid citric, iar în amestecul acetat + acid citric numai 0,05%; date analoge au fost găsite de noi şi la *Azotobacter croococcum*).

Adaptări la fel de specifice găsim şi faţă de alte surse de carbon. Levura *Schizosaccharomyces pombe* atacă de exemplu dextrina din cartof şi nu atacă pe cea din orez. Aceeaşi specializare strictă se remarcă şi la bacteriile care atacă hidrocarburile ciclice şi aciclice din petrol şi alţi compuşi analogi, ca şi la bacteriile care atacă metanul (dintre care pentru *B. methanicus* s-a găsit o aplicare practică în minele de cărbuni). Aceste bacterii posedă sisteme enzimatice specializate care oxidează aceşti compuşi inaccesibili altor specii în alcooli şi aldehide uşor utilizabile.

La fel de fine pot fi cerinţele specifice faţă de hrana azotată (amintim în această privinţă importanţa proporţiei de aminoacizi şi polipeptide din mediul de cultură, pentru producerea toxinei difterice sau tetanice).

Cerinţele nutritive specifice ale microorganismelor nu privesc numai substanţele organice şi sărurile minerale, ci chiar şi compoziţia în polimeri a apei. Apa proaspăt distilată, care conţine o proporţie mai mare de molecule H_2O şi $(H_2O)_2$, şi este mai favorabilă creşterii microorganismelor decît apa distilată mai veche, care conţine o cantitate mai mare de trimeri $(H_2O)_3$. Pot exista adaptări la fel de specifice faţă de temperatură (termofili, criofili), presiune osmotică (halofili) etc.

Fiecare din adaptările specifice la mediu amintite priveşte nu numai sisteme enzimatice izolate, ci modificări mai mult sau mai puţin adînci ale întregului metabolism. De aceea, în legătura sa specifică cu mediul, organismul cu toate funcţiunile sale trebuie privit ca un întreg, la care unele funcţiuni se modifică în mod nemijlocit, sub influenţa mediului, şi altele numai în mod indirect, fiind însă şi ele strîns legate de mediul ambiant.

În studiul diferitelor tipuri ecologice pe care îl vom face în cele ce urmează, va trebui deci să ţinem seama, pe de o parte, de legătura strînsă între aspectele generale şi specifice ale metabolismului microbian şi, pe de altă parte, de faptul că specificitatea nu poate privi numai o funcţie izolată, ci numai organismul microbian în totalitatea sa.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL II

NUTRIȚIA MICROORGANISMELOR ȘI MEDIUL

(Bacterii autotrofe și eterotrofe)

Una din cauzele principale ale diferențierii speciilor de microorganisme o constituie condițiile de nutriție diferite la care ele au fost obligate să se adapteze în cursul evoluției lor. Dintre adaptările la anumite surse de nutriție, adaptări care au creat tipuri de metabolism analoge la bacterii care fac parte din cele mai diferite genuri, deosebit de caracteristice sînt acelea care au dus pe de o parte la autotrofism, adică la posibilitatea sintezei substanțelor celulare din bioxid de carbon și o sursă minerală de azot și pe de altă parte la pierderea capacității de sintetizare a unor vitamine sau aminoacizi. În cele ce urmează nu vom analiza deci autotrofismul sau eterotrofismul ca atare, ci mai degrabă ca exemple tipice pentru interrelația între cerințele specifice ale microorganismelor și mediul lor ambiant și pentru rolul determinant al mediului în formarea cerințelor nutritive specifice ale microorganismelor.

Cu toate că în cazul autotrofismului și al pierderii capacității de a sintetiza vitamine sau aminoacizi avem de a face cu două tipuri de metabolism cu totul diferite, care s-au format în urma adaptării și selecției, totuși analiza ambelor tipuri de metabolism poate arăta în aceeași măsură atît legătura specifică a organismelor respective cu mediul ambiant, cît și prezența unor trăsături comune tuturor organismelor vii.

1. Bacterii autotrofe

Una din dovezile cele mai evidente ale posibilității bacteriilor de a se adapta la surse de nutriție din cele mai diferite este existența bacteriilor autotrofe.

Sînt considerate ca autotrofe bacteriile care utilizează ca singura sursă de carbon CO_2, ca sursă de azot NH_3, NO_2 sau NO_3 și ca sursă de energie, fie energia chimică rezultată în urma oxidării unor compuși anorganici, fie cea a radiațiilor solare (117).

Proprietatea poate cea mai caracteristică a autotrofilor este coexistența capacității aproape nelimitate de sinteză, plecînd de la compuși simpli, cu specificitatea pronunțată față de sub-

stratul care serveşte ca sursă de energie, specificitate care uneori este absolută. Această reunire de proprietăţi puţin obişnuite pentru alte bacterii a făcut ca izolarea şi studiul bacteriilor autotrofe să întîrzie, cu toate că activitatea lor în mediul natural se cunoştea de mult.

Bacteriile autotrofe au putut fi studiate de către Winogradski numai prin adaptarea metodei sale de lucru tipului de metabolism al acestora şi cerinţelor lor specifice faţă de mediul ambiant. Winogradski, studiind oxidarea hidrogenului sulfurat în sulfaţi şi a amoniacului în nitriţi şi nitraţi, a găsit că microorganismele respective nu puteau fi izolate pe mediile bogate (plăci de gelatină), cu care lucrau microbiologii din acel timp, ci trebuiau utilizate medii mult mai sărace, lipsite de substanţe organice. El a întrebuinţat plăci de silicagel care conţineau săruri minerale, compusul anorganic utilizat ca sursă de energie (o sare de NH_3 sau NO_2, tiosulfat etc.), precum şi o sursă anorganică de azot. Winogradski a arătat că prezenţa unor compuşi organici (zaharuri sau peptone) nu numai că nu este necesară, aceste bacterii putînd sintetiza substanţele organice din celulă, din bioxid de carbon atmosferic şi azot mineral, dar este chiar dăunătoare pentru dezvoltarea lor.

Utilizarea mediilor sărace a uşurat şi izolarea bacteriilor autotrofe în culturi pure, celelalte specii bacteriene cu care se găsesc împreună în mediul lor natural, neputînd creşte pe astfel de medii decît în urma activităţii vitale a autotrofilor.

În compoziţia fiecăruia din aceste medii trebuia să intre în mod obligator un anumit compus anorganic, care îi serveşte speciei respective de autotrof, ca singura sursă de material energetic.

Metoda de lucru a lui Winogradski corespundea deci la două particularităţi ale autotrofilor : utilizarea bioxidului de carbon atmosferic ca singura sursă de carbon şi specializarea faţă de o anumită sursă de energie.

Observaţiile făcute asupra primelor bacterii autotrofe izolate l-au determinat la început pe Winogradski şi determină încă şi astăzi pe unii microbiologi, cum ar fi W. W. Umbreit (203), să considere ca autotrofe numai acele microorganisme, care nu pot înlocui bioxidul de carbon cu nici o altă sursă de carbon şi sînt strict specializate faţă de sursa de energie.

Această definiţie se poate aplica însă numai la un grup relativ restrîns de microorganisme (*Thiobacillus thioparus*, *Thiobacillus thio-oxidans*, bacteriile care participă la procesul

de nitrificare şi unele ferobacterii), care prezintă cel mai înalt grad de specializare în această privinţă. Ea nu cuprinde bacteriile facultativ autotrofe, care pot utiliza şi alte surse de carbon sau pot înlocui sursa minerală de energie cu una apropiată. Prin această definiţie sînt excluşi din grupul autotrofilor Thiorodaceele care pot utiliza în anumite condiţii şi alte surse de carbon decît CO_2, cu toate că în privinţa sursei de energie (fotoreducere) sînt mai autotrofe decît bacteriile chemosintetizante strict autotrofe. Toate aceste fapte au determinat pe unii cercetători, ca D. I. Sapojnikov (176) sau N. D. Ierusalimski (68) să nu considere autotrofii ca un grup de microorganisme cu proprietăţi absolut distincte, ci ca un grup de bacterii din care o parte au ajuns la o specializare extremă, iar altele reprezintă forme de trecere spre organismele eterotrofe.

Legînd gradul de autotrofism de condiţiile de viaţă ale microorganismelor respective, aceşti autori ajung la o lărgire a sensului noţiunii de autotrofism. Se poate distinge astfel: aminoautotrofismul (posibilitatea de a sintetiza substanţele azotate din N_2, NH_3, NO_2 sau NO_3), auxoautotrofismul (capacitatea de a sintetiza factorii de creştere), autotrofismul din punct de vedere energetic (capacitatea de a utiliza energia radiaţiilor sau cea chimică a oxidării unor compuşi minerali) şi carboautotrofismul (CO_2 poate fi utilizat ca sursă de carbon pentru sinteza substanţelor celulare). Dată fiind marea importanţă pentru organismele respective şi caracterele speciale ce le conferă proprietatea de a utiliza bioxidul de carbon ca singura sursă de carbon, organismele care posedă această proprietate au fost denumite autotrofe, fără vreo altă precizare şi sînt considerate ca făcînd parte dintr-o categorie deosebită de aminoautotrofi, auxoautotrofi etc.

Cu toate că, după cum am văzut, se pare că toate organismele vii fixează bioxidul de carbon, capacitatea de a sintetiza materia celulară organică numai din CO_2 este proprie numai unui grup restrîns de bacterii, care s-au adaptat la viaţă în medii sărace în substanţe organice.

Pentru carboeterotrofi, substanţele organice sînt nu numai sursa materialului plastic, dar şi sursa de energie. Carboautotrofii, lipsiţi de sursa de energie proprie organismelor eterotrofe, s-au adaptat, pe lîngă suplinirea substanţelor organice ca material plastic, şi la suplinirea lor ca material energetic.

Scanned with OKEN Scanner

Apariţia autotrofilor stricţi, precum şi existenţa diferitelor grade de autotrofism, ca şi a celorlalte proprietăţi care le întovărăşesc, corespund la un grad mai mare sau mai mic de specializare în utilizarea bioxidului de carbon ca singura sursă de carbon. Autotrofismul nu poate fi cuprins în definiţii absolute, ci trebuie explicat pentru fiecare caz în parte prin stabilirea condiţiilor de mediu care au determinat proprietăţile respective.

Dintre caracterele comune mai multor grupuri de bacterii autotrofe, vom analiza din acest punct de vedere :

— specializarea faţă de sursa de nutriţie,

— relaţiile unor autotrofi cu alte microorganisme,

— elemente metabolice specifice autotrofilor şi elemente comune cu alte microorganisme.

Înainte de a trece însă la analiza acestor proprietăţi ale bacteriilor autotrofe, vom aminti pe scurt cîteva proprietăţi caracteristice principalelor grupe de autotrofi.

Bacteriile autotrofe se clasifică după sursa de energie utilizată. Din acest punct de vedere, autotrofii se împart în :

— Chemosintetizanţi sau chimioautotrofi, care utilizează energia rezultată din oxidarea diferiţilor compuşi anorganici.

— Fotosintetizanţi sau fotoreducători, care utilizează ca sursă de energie, energia radiaţiilor solare, reducînd pe această cale bioxidul de carbon, în compuşi care pot servi ca material de plecare pentru sintezele celulare.

Chemosintetizanţi

Dată fiind specificitatea strictă faţă de compusul anorganic oxidat, natura compuşilor anorganici utilizaţi a servit ca principal criteriu de clasificare a autotrofilor chemosintetizanţi.

După sursa de energie utilizată, chimioautotrofii se împart în mai multe grupe.

a. *Bacterii nitrificatoare.* Procesul de nitrificare constă în oxidarea amoniacului în nitraţi, prin utilizarea oxigenului atmosferic. Oxidarea amoniacului şi a produşilor intermediari de oxidare asigură energia necesară proceselor endoterme din celule.

Procesul de nitrificare se compune din două faze diferite; oxidarea amoniacului în nitriţi:

$$NH_3 + 3\,O = HNO_2 + H_2O + 79\,000 \text{ cal.}$$

— oxidarea nitriţilor în nitraţi:

$$HNO_2 + O = HNO_3 + 21\,600 \text{ cal.}$$

Fiecare din aceste procese este realizat de bacterii diferite, foarte specializate faţă de sursa de energie.

Prima fază a nitrificării este realizată de specii de *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosocystis* şi *Nitrosospira*, specii care se subîmpart în diferite rase geografice, uneori foarte deosebite din punct de vedere morfologic.

Bacteriile care oxidează amoniacul în nitriţi sînt strict specifice în privinţa utilizării atît a amoniacului, cît şi a bioxidului de carbon, alte surse de carbon şi azot, mai ales cele uşor utilizate de alte microorganisme (glucoză, asparagină, peptonă) inhibînd creşterea lor în mediu sintetic lichid, chiar în concentraţii foarte mici 0,02—0,03 M[1]). Aceste bacterii sînt foarte sensibile şi la creşterea concentraţiei de amoniac, concentraţia optimă fiind pentru *Nitrosomonas* de 0,005 M.

Procesul de nitrificare realizat de nitritbacterii se opreşte la faza de NO_2, aceste organisme neputînd efectua oxidarea nitriţilor în nitraţi.

A doua fază a nitrificării este realizată de *Nitrobacter*, mai puţin sensibil faţă de diferitele substanţe organice, însă foarte sensibil faţă de bulionul nutritiv şi prezenţa sărurilor de amoniu. *Nitrobacter* este şi el strict autotrof.

b. *Bacterii care oxidează sulful şi derivaţi ai sulfului.* Dacă procesul de nitrificare se datoreşte unor bacterii care constituie un grup destul de unitar în privinţa metabolismului lor şi a cerinţelor lor faţă de mediu, grupul de bacterii care oxidează compuşi ai sulfului este foarte eterogen.

Pentru o clasificare mai uşoară, aceste bacterii au fost împărţite de majoritatea autorilor în 3 grupe (unii autori le împart în 5 şi chiar mai multe grupe).

Din prima grupă fac parte bacterii filamentoase care depozitează granule de sulf în interiorul corpului lor: *Thiotrix*, *Beggiatoa* şi *Thioploca*. Aceste microorganisme, al căror autotrofism strict nu a fost încă stabilit cu precizie, oxidează, într-o primă etapă, hidrogenul sulfurat în sulf, care se depune în interiorul celulei[2]):

$$H_2S + 1/2\ O_2 = H_2O + S + 32\,500\ \text{cal.}$$

În a doua etapă a procesului, sulful acumulat în interiorul celulei este oxidat mai departe în sulfat:

$$S + 1^1/_2\ O_2 + H_2O = SO_4H_2 + 141\,800\ \text{cal.}$$

Sulful acumulat în celule serveşte în acest caz ca rezervă de material energetic, analog glicogenului din ficat sau amidonului din tuberculul de cartof.

Al doilea grup de sulfobacterii nu acumulează granule de sulf în interiorul celulei, însă o parte din reprezentanţii acestui grup depun sulf în afara celulei. Aceste bacterii oxidează în afară de hidrogenul sulfurat şi tiosulfaţii, sulfiţii şi tetrationaţii. Acest grup de bacterii este foarte eterogen. Ca specii reprezentative amintim autotroful obligator *Thiobacillus thioparus*, care poate oxida tiosulfatul în sulfat, cu o formare concomitentă de sulf elementar:

$$5\ Na_2S_2O_3 + H_2O + 4\ O_2 = 5\ Na_2SO_4 + H_2SO_4 + 4\ S + 500\,300\ \text{cal.}$$

---

[1]) Recent Kalinenko (84) a arătat că *Nitrosomonas europaea* poate creşte în prezenţa unor concentraţii mari de glucoză şi alte substanţe organice care inhibă nitrificarea, nu însă şi acumularea de proteine.

[2]) La *Beggiatoa*, de exemplu, cantitatea de sulf depusă în interiorul celulei poate ajunge pînă la 90% din greutatea ei uscată.

Scanned with OKEN Scanner

şi bacilul facultativ autotrof *Thiobacillus novellus* care oxidează tiosulfatul fără depunere de sulf în mediul de cultură:

$$Na_2S_2O_3 + H_2O + 2\ O_2 = Na_2SO_4 + H_2SO_4 + 211\,100\ cal.$$

Optimul de pH al acestei bacterii este în domeniul neutru, din care cauză mediul de cultură trebuie să conţină Ca pentru neutralizarea acidului sulfuric format.

Reacţia de oxidare a tiosulfatului în sulfat nu este proprie numai tiobacteriilor, ci poate fi realizată şi de eterotrofi tipici, ca *Pseudomonas aeruginoza*, *Ps. fluorescens* sau *Achromobacter stutzerii*.

Spre deosebire de microorganismele descrise pînă acum, care oxidează sulfaţii cu ajutorul oxigenului atmosferic, microorganismul strict autotrof şi anaerob *Thiobacillus denitrificans* utilizează oxigenul din nitraţi ca sursă de oxigen pentru oxidarea sulfului elementar şi a tiosulfatului în sulfaţi după reacţiile:

$$6\ KNO_3 + 5\ S + 2\ CaCO_3 = 3\ K_2SO_4 + 2\ CaSO_4 + 2\ CO_2 + 3\ N_2 + 660\,000\ cal.$$

$$5\ Na_2S_2O_3 + 8\ K\ NO_3 + 2\ NaHCO_3 = 6\ Na_2SO_4 + 4\ K_2SO_4 + 4\ N_2 + 2\ CO_2 + H_2O.$$

Metabolismul acestor bacterii depinde deci de două substanţe anorganice (S şi NO_3).

Caracteristica celui de al treilea grup de sulfobacterii este oxidarea directă a sulfului elementar şi a tiosulfatului în acid sulfuric, care se acumulează în mediul de cultură. *Thiobacillus thio-oxidans*, reprezentantul acestui grup, oxidează sulful şi tiosulfatul în acid sulfuric, după următoarele reacţii:

$$S + 1\ 1/2\ O_2 + H_2O = H_2SO_4 + 141\,800\ cal.$$

$$Na_2S_2O_3 + 2\ O_2 = Na_2SO_4 + H_2SO_4 + 211\,100\ cal.$$

Pentru a putea utiliza granulele de sulf din mediul ambiant, bacteria posedă o incluziune mare de natură lipidică, care solubilizează sulful. Proprietatea cea mai caracteristică a acestei bacterii este însă adaptarea la produsul principal al metabolismului său (H_2SO_4). Bacteria se dezvoltă bine la un pH sub 1, care corespunde cantităţilor importante de acid sulfuric (5—10%) ce se acumulează în mediul de cultură şi nu poate creşte la un pH mai înalt ca 5.

Cu toate că *Thiobacillus thio-oxidans* este strict autotrof, creşterea sa este stimulată de glucoză, pe care o scindează (însă nu o utilizează) în cantităţi măsurabile). Peptona inhibă în concentraţii mici creşterea acestei bacterii.

Bacillus thiocyanoxidans reprezintă o formă de trecere de la autotrofism spre microorganismele eterotrofe. El utilizează în medii lipsite de substanţe organice sulfocianura de amoniu, ca singura sursă de material plastic şi energetic. În medii mai bogate nu utilizează de loc tiocianatul, enzimele care atacă tiocianatul fiind de natură adaptativă şi apărînd numai atunci cînd organismul este lipsit de alte surse de azot şi carbon.

La grupul de bacterii care oxidează compuşii sulfului întîlnim deci cele mai diferite mecanisme metabolice, precum şi toate gradele de trecere de la autotrofism strict spre un anumit grad de toleranţă faţă de compuşi organici şi autotrofism facultativ.

c. *Ferobacteriile.* Ferobacteriile sînt bacterii autotrofe, a căror sursă de energie o constituie oxidarea fierului bivalent în Fe trivalent după reacţia:

$$4\ FeCO_3 + 6\ H_2O + O_2 = 4\ Fe(OH)_3 + 4\ CO_2 + 81\,000\ cal.$$

Între ferobacterii găsim autotrofi stricţi, cum ar fi *Spirophyllum ferruugineum* şi autotrofi facultativi cum este *Leptothrix ochracea*, care în prezenţa hranei organice nu mai oxidează fierul. În acelaşi timp, în cazul nutriţiei autotrofe, fierul nu este absolut specific, el putînd fi înlocuit cu Mn.

Deci şi la ferobacterii, la fel ca la bacteriile care oxidează sulful, găsim o trecere gradată de la autotrofism strict la autotrofism facultativ.

d. *Microorganismele care oxidează hidrogenul molecular şi oxidul de carbon.* Aceste microorganisme sînt o formă de trecere între microorganismele autotrofe şi cele eterotrofe.

Hidrogenbacteriile catalizează reacţia:

$$H_2 + 1/2\ O_2 = H_2O$$

respectiv,

$$H_2CO_3 + H_2 = HCHO + H_2O + 6000 \text{ cal.}$$
$$HCHO + O_2 = H_2CO_3 + 132\,000 \text{ cal.}$$

Hidrogenbacteriile *Bacillus pantotrophus*, *Bacillus pycnoticus* ş. a. sînt autotrofi facultativi, utilizînd CO_2 numai în lipsa unor alte surse de carbon.

Spre deosebire de oxidarea amoniului, a nitriţilor, a sulfului sau a fierului, oxidarea hidrogenului este un proces răspîndit la cele mai diferite bacterii (*E. coli*, *Azotobacter* etc.), ceea ce indică şi mai precis poziţia intermediară între autotrofi şi eterotrofi a acestor organisme. În acest caz, o funcţie comună multor bacterii eterotrofe a fost adaptată la reducerea bioxidului de carbon.

Oxidarea monoxidului de carbon este mult mai puţin răspîndită, decît cea a hidrogenului. Ea a fost găsită pînă acum numai la *Bacillus oligocarbophilus*, o bacterie care în prezenţa oxidului de carbon sau acidului formic are o formă de actinomicet, iar pe medii bogate are forma de coc.

Dintre formele de trecere de la autotrofi spre eterotrofi fac parte şi bacteriile care oxidează aldehida formică şi metanul, ca şi cele care oxidează hidrocarburi alifatice inferioare care se găsesc mai ales în gazele naturale şi în petrol.

Bacteriile fotosintetizante

Bacteriile fotosintetizante se împart după pigmentul pe care-l conţin, în: bacterii filamentoase verzi şi Thiorodacee.

Grupul cel mai bine studiat îl formează Thiorodaceele care oxidează compuşi ai sulfului pînă la sulfaţi cu fotoreducere simultană de bioxid de carbon. Ca şi sulfobacteriile din grupul *Beggiatoa*, Thiorodaceele depun granule de sulf în interiorul celulei.

Thiorodaceele sînt facultativ autotrofe, putînd utiliza hidrogenul provenit de la diferite substanţe organice pentru reducerea bioxidului de carbon. Se pare că procesul de fotosinteză este catalizat la ele de două bacterioclorofile analoge clorofilelor *a* şi *b* din plante. În procesul de fotoreducere au probabil importanţă mare şi pigmenţi de natură carotenică, al căror rol pare şi el analog cu cel al carotenelor de la plante.

Comparînd fotosinteza plantelor cu cea a bacteriilor fotosintetizante, van Niel (157) şi alţi autori sînt de părere că acestea în esenţă sînt identice, cu deosebirea că mecanismul primitiv existent la bacterii a fost adaptat la plante, la condiţii aerobe.

Alga verde *Scenedesmus* reprezintă în această privinţă o formă de trecere ntre plante şi bacterii, posedînd ambele mecanisme. În condiţii aerobe ea

utilizează hidrogenul din apă pentru reducerea bioxidului de carbon cu degajare de oxigen, iar în condiţii anaerobe utilizează hidrogenul eliberat de diferiţi donori organici de hidrogen.

Athiorodaceele, organisme fotoreducătoare anaerobe eterotrofe, care posedă aceiaşi pigmenţi ca şi Thiorodaceele, reprezintă şi ele o punte de legătură între Thiorodacee şi bacteriile eterotrofe.

★

Aceste date privind metabolismul bacteriilor chemosintetizante şi fotosintetizante ne indică unele particularităţi ale acestor bacterii.

La toate grupele de bacterii autotrofe se observă o specializare deseori foarte strictă în privinţa utilizării surselor anorganice de energie (oxidarea NH_3, NO_2, SH_2, $Na_2S_2O_3$, Fe^{++} H_2, CO etc.). Unele din aceste substanţe pot fi oxidate şi de bacteriile eterotrofe, însă nici una nu reprezintă la aceste bacterii, singura sursă de energie.

La specializarea strictă a autotrofilor se adaugă un randament scăzut al utilizării diferitelor surse de energie. Astfel *Thiobacillus thio-oxidans* oxidează sulful cu un randament energetic de 6,2%, la *Thiobacillus denitrificans* găsim un randament de 8,7%, iar la *Nitrobacter* de 4,53% [1]). Fotoreducerea hidrogenului sulfurat are loc şi ea cu un randament energetic mult mai scăzut decît procesele de fotosinteză la plante, care au un randament de 35—45%.

Randamentul energetic foarte scăzut al oxidării substanţelor minerale îngreunează probabil mult concurenţa cu specii care posedă un randament mai înalt al utilizării surselor de energie. Din această cauză, condiţiile cele mai bune de supravieţuire vor fi în absenţa oricărei surse organice de carbon şi azot, condiţii în care dezvoltarea speciilor concurente eterotrofe este imposibilă. Concurenţa cu speciile eterotrofe mai este îngreunată şi de faptul că sinteza componentelor celulare plecînd de la bioxid de carbon şi azot mineral, cuprinde mai multe etape şi are deci un randament mai mic decît plecînd de la compuşi organici preformaţi, a căror includere în

[1]) Dintre autotrofi hidrogenbacteriile şi *Carboximonas*, mai apropiate de bacteriile eterotrofe, prezintă o utilizare mai bună a surselor de energie, randamentul lor energetic putînd ajunge în cazul oxidării $H_2 \rightarrow 2H^+$ pînă la 29%, adică la valori apropiate de cele care se întîlnesc la bacteriile eterotrofe (*E. coli* 30,8%, *B. pyocianic* 27,7%, *B. proteus* 19,9% etc.).

metabolism cere deseori numai un număr redus de procese enzimatice.

Aceste fapte constituie probabil unele din cauzele selecției formelor celor mai specializate față de sursa de energie anorganică și lipsite de capacitatea de a utiliza compuși organici preformați [1]).

Lipsa capacității de a utiliza compuși organici preformați este de obicei întovărășită de inhibiția într-un grad mai mare sau mai mic a creșterii în prezența anumitor compuși organici. Trebuie remarcat faptul că acei compuși care prezintă cea mai pronunțată activitate inhibitoare (glucoză, aminoacizi, peptone) sînt tocmai acei care au și un rol deosebit de important în metabolismul celular [2]).

Acești compuși există uneori în cantitate mare în celulă și sînt metabolizați sub forma în care se găsesc acolo. Pentru explicarea acțiunii inhibitoare a acestor compuși s-au emis mai multe ipoteze. Meyerhof crede că activitatea inhibitoare a diferiților compuși organici ar fi în funcție de solubilitatea lor în lipide, aducînd și unele dovezi experimentale în această privință. Această ipoteză poate explica însă cel mult o parte din fenomenele observate. M. V. Fedorov (33) consideră că substanțele organice pătrunzînd în celule specializate în oxidarea unor substanțe minerale, și care nu posedă deci sistemele enzimatice pentru oxidarea compușilor organici, duc la tulburări metabolice. Aceste tulburări metabolice presupuse de Fedorov pot fi explicate ținînd seama de faptul că aceeași substanță se poate găsi în interiorul organismului și în mediul ambiant sub diferite forme (multe substanțe se găsesc în interiorul celulei sub formă enolică, fosforulată etc.). Pătrunderea din mediu a unor substanțe analoge cu cele din interiorul corpului microbian, substanțe care nu pot fi însă metabolizate mai departe, poate duce la o inhibiție prin con-

---

[1]) Proprietatea de a nu utiliza unii compuși organici nu o găsim numai la carboautotrofi, ci și la alți germeni adaptați la o nutriție mai săracă. Astfel, fixatorul de azot atmosferic *Azotobacter* nu crește pe bulion și nu poate utiliza aproape de loc azotul din aminoacizi.

[2]) Glucoza, de exemplu, inhibă creșterea *Nitrobacter*-ului în concentrație de 0,0025 M, pe cînd ureea, care are desigur o importanță mult mai mică pentru metabolismul celular, este activă abia la o concentrație de 0,15 M (Meyerhof).

curență a transformărilor enzimatice suferite de compușii proprii ai celulei și deci, la oprirea creșterii sale.

Neutilizarea diferitelor substanțe organice sau inhibiția creșterii în prezența lor depind de condițiile de viață ale speciilor respective.

În cele ce urmează vom da cîteva exemple în această privință. Nitritbacteriile și nitratbacteriile sînt deosebit de sensibile la prezența substanțelor organice. Sursa lor de energie (NH_3) fiind accesibilă și altor organisme eterotrofe, ele se pot dezvolta mai bine în medii sărace în substanțe organice, unde speciile eterotrofe concurente se dezvoltă mai greu. Totuși, rezultatele obținute în laborator, unde condiția de viață obligatorie pentru nitrificatori este lipsa aproape completă a substanțelor organice, nu pot fi comparate cu fenomenele observate în sol, unde există grade deosebite de epuizare a substanțelor organice din mediu. În condițiile de sol, bacteriile nitrificatoare rezistă la concentrații mult mai mari de glucoză decît în medii sintetice lichide (în parte și din cauza adsorbției glucozei pe particulele de sol și a consumării rapide de către alte bacterii), observîndu-se chiar o anumită stimulare a procesului de nitrificare.

Între bacteriile care oxidează NO_2 există chiar și autotrofi facultativi, cum ar fi *Nitrobacter olygotrophum*, care în prezența substanțelor organice trece în *Nitrobacter polytrophum*, încetînd să mai oxideze nitriții (Mișustin).

Între speciile de nitritbacterii pot exista deosebiri mari în privința sensibilității lor față de concentrația sărurilor de amoniu din sol (*Nitrosomonas* este adaptat la soluri bogate, iar *Nitrosospira* la soluri foarte sărace în săruri de amoniu).

Toate aceste fapte arată că un grup de bacterii aparent atît de omogen, cum este cel al nitrificatorilor, poate prezenta nuanțe foarte fine în interrelațiile sale cu sursele de carbon și azot, în funcție de cerințele specifice ale speciilor respective.

Compușii sulfului sînt mai greu accesibili majorității bacteriilor eterotrofe (hidrogenul sulfurat este chiar toxic pentru majoritatea lor), astfel că, pentru aceste surse de hrană, există o concurență naturală mai mică. În afară de aceasta, acumularea frecventă de hidrogen sulfurat, format în urma proceselor de putrefacție și în bazine de apă închise, are loc în medii uneori bogate în substanțe organice. Aceste fapte ex-

Scanned with OKEN Scanner

plică sensibilitatea în general mai mică a sulfobacteriilor față de substanțele organice și existența între sulfobacteriile fotosintetizante și chemosintetizante, a unui număr mare de specii facultativ eterotrofe.

O situație analogă există și la ferobacteriile din bazinele de apă, închise.

Hidrogenbacteriile, bacterii care se dezvoltă utilizînd produșii finali de degradare ai substanțelor organice, au un randament înalt de utilizare a energiei oxidării hidrogenului molecular și de aceea se dezvoltă la fel de bine în prezența substanțelor organice, ca și în absența lor. Spre deosebire de alți autotrofi facultativi (*Leptothrix* de exemplu, care în condiții de eterotrofism nu mai oxidează fierul, randamentul oxidării fierului nepermițindu-i concurența cu eterotrofii), hidrogenbacteriile continuă să oxideze hidrogenul și în medii nutritive bogate, oxidarea hidrogenului fiind probabil un proces propriu eterotrofilor, care în cazul hidrogenbacteriilor s-au adaptat la autotrofism.

Apropierea mai mare a hidrogenbacteriilor decît a celorlalți autotrofi facultativi de eterotrofi este marcată și prin apariția necesității în factori de creștere (tiazol sau pirimidină) la unele dintre ele.

Din cele expuse pînă aici, ca și din alte fapte analoge, reiese că noțiunile de specificitate de substrat și de inhibiție de către substanțele organice a metabolismului autotrofilor pot căpăta un conținut real numai dacă se ține seama de istoricul speciilor respective și de interrelațiile lor cu mediul ambiant.

Cu toată independența lor de substanțele organice produse de alte organisme, autotrofii sînt tot atît de legați de mediul lor biologic, ca și de cel abiotic.

Principala sursă de amoniac a nitrificatorilor, care reprezintă bacteriile cu cel mai înalt grad de autotrofism, este amoniacul produs pe căi foarte variate (reducerea NO_3, hidroliza ureei, hidroliza glucozaminei din chitină și mai ales dezaminarea aminoacizilor în cursul procesului de putrefacție) de bacteriile amonificatoare.

O m e l e a n s k i a încercat să creeze un model experimental al acestor procese, însămînțînd în bulion diluat o bacterie amonificatoare (*B. ramnosus*) împreună cu *Nitrosomonas* și

Nitrobacter. *B. ramnosus* consumă toate substanţele nutritive din mediu şi produce amoniac. Din acest moment începe să se dezvolte *Nitrosomonas*, ceea ce duce la o acumulare de nitriţi. După ce concentraţia de amoniac a scăzut suficient de mult ca să permită dezvoltarea *Nitrobacter*-ului şi s-a acumulat o cantitate oarecare de nitriţi, începe oxidarea acestora în nitraţi.

Prin dezvoltarea bacteriilor nitrificatoare nu are loc numai o acumulare de nitraţi, substanţe importante pentru dezvoltarea plantelor, dar şi o îmbogăţire a mediului ambiant în substanţe nutritive şi factori de creştere, ceea ce permite dezvoltarea unor organisme eterotrofe. Dependenţa unor specii de microorganisme eterotrofe de dezvoltarea nitrificatorilor a făcut ca izolarea acestora în culturi pure să fie anevoioasă chiar pe medii sărace, lipsite de substanţe organice. După observaţiile lui A. A. Imşeneţki (76), *Nitrosomonas* trăieşte în simbioză cu un mixomicet eterotrof *(Sorangium symbioticum)*, care se dezvoltă imediat ce încep să crească coloniile de *Nitrosomonas*, astfel încît unii cercetători au considerat chiar cistele formate de mixobacterii drept bacterii nitrificante. Alţi autori au arătat o simbioză asemănătoare între *Nitrosomonas* şi *Hypomicrobum vulgare*, simbioză care a determinat pe unii autori să-i acorde celei de a doua bacterii proprietăţi nitrificatoare.

Date analoge putem găsi la toate celelalte microorganisme autotrofe. Deci autotrofii, cu toate că aparent sînt independenţi de alte organisme vii, neavînd nevoie de hrană organică preformată, în realitate sînt la fel de strîns legaţi de mediul lor biologic, ca toate microorganismele eterotrofe [1]).

În cele expuse pînă acum ne-am ocupat mai ales de trăsăturile specifice ale metabolismului autotrofilor, care reprezintă una din cele mai elocvente exemplificări ale posibilităţilor aproape nelimitate pe care le au microorganismele, de a uti-

---

[1]) Legătura strînsă dintre microorganismele autotrofe şi mediul lor biologic este un argument în plus pentru ipoteza lui Oparin, care consideră microorganismele autotrofe ca organisme specializate evoluate, care provin de la microorganisme primitive anaerobe, iniţial eterotrofe. Totuşi, deosebirile mari existente între autotrofi şi posibilitatea apariţiei amoniacului şi a sulfaţilor în urma unor procese pur chimice, fac ca să nu se poată exclude, cel puţin pentru o parte a autotrofilor, ipoteza mai veche a lui Viliams, care consideră autotrofii ca fiind primele organisme vii apărute pe pămînt.

Scanned with OKEN Scanner

liza cele mai diferite surse de nutriție, făcîndu-le în felul acesta accesibile în mod indirect și altor organisme [1]).

Cu tot modul lor de viață deosebit de specific, care determină fiziologia și morfologia lor, metabolismul autotrofilor are totuși unele trăsături comune cu toate organismele vii.

Celula autotrofilor este formată din aceleași grupe principale de substanțe ca și celelalte microorganisme, conținînd proteine, glucide, lipide și aceleași săruri minerale; reacțiile de metabolism par și ele aceleași ca la toate celelalte organisme.

Studiul mai amănunțit al metabolismului autotrofului obligator deosebit de specializat *Thiobacillus thio-oxidans*, care în afară de adaptarea la autotrofism mai este adaptat și la un mediu foarte acid, a arătat că :

— Oxidarea sulfului se face prin intermediul citocromilor, care sînt inhibați de CO_2 și CNH, ca și citrocomii de la alte organisme aerobe.

— În cursul oxidării sulfului are loc o absorbție de fosfor anorganic din mediul de cultură, care este fixat de adenozin-3-fosfat, care are același rol ca și adenozin-5-fosfatul din celulele celorlalte organisme [2]). Energia acumulată în grupările macroergice de adenozin-3-fosfat poate servi apoi la reducerea bioxidului de carbon, care este însoțit de o eliminare de fosfat anorganic în mediul de cultură.

— Produsul final al reducerii bioxidului de carbon este un compus cu 3 atomi de carbon (probabil acid piruvic), care poate servi la sinteza glucidelor, peptidelor și a lipidelor. Dintre produșii metabolismului intermediar al glucidelor s-a izolat la *Thiobacillus thio-oxidans* glucozo-6-fosfat și fructozo-1,6-fosfat, ceea ce apropie și mai mult metabolismul său intermediar de cel al celorlalte organisme vii.

— Coenzimele care intervin în metabolismul lui *Thiobacillus thio-oxidans* sînt și ele identice cu cele de la alte organisme vii (codehidraza I, tiamina, biotina, acidul pantotenic etc.).

---

[1]) Rolul important al microorganismelor autotrofe în circulația substanțelor este determinat și de randamentul energetic scăzut al autotrofilor, care îi obligă să transforme cantități mari de substanțe pentru a putea realiza sinteza componentelor lor celulare. Pentru formarea unui gram de carbon organic *Nitrobacter* trebuie să oxideze 135 g NO_2, *Thiobacillus thio-oxidans* 100 g S, *Spirophyllum ferrugineum* 500 g $FeCO_3$ etc.

[2]) Adenozin - 3 - fosfatul nu se găsește numai la *Thiobacillus thio-oxidans*, acest compus a fost găsit și la Thiorodacee și la plante.

în urma blocării proceselor de sinteză ale unor vitamine cu ajutorul razelor ultraviolete, *Thiobacillus thio-oxidans* devine auxoeterotrof, avînd nevoie pentru dezvoltarea sa de extracte de levuri, asemenea multor microorganisme eterotrofe.

Date analoge au fost găsite şi în privinţa asemănării proceselor de fotosinteză la Thiorodacee, Athiorodacee şi plantele verzi, ceea ce a adus elemente importante pentru elaborarea unei teorii generale a fotosintezei (156), (157).

În concluzie, reluînd problema pusă iniţial, putem afirma că toate proprietăţile autotrofilor (utilizarea bioxidului de carbon, specificitatea faţă de substrat, apariţia autotrofismului obligator etc.) pot fi înţelese numai aplicînd legea fundamentală a biologiei miciuriniste, a legăturii organismului cu condiţiile sale de viaţă. Conţinutul viu, biologic al noţiunii de specificitate faţă de substrat, al randamentului energetic scăzut ş. a., pot fi găsite numai prin analiza condiţiilor de viaţă ale acestor organisme şi ţinînd seama de legile biologice generale, valabile pentru toate organismele vii.

2. Auxoeterotrofismul şi aminoeterotrofismul

Noţiunea de autotrofism este, după cum am arătat în paginile precedente, mult mai largă decît era considerată la început, ea putînd privi atît autotrofismul faţă de sursele de carbon, cît şi faţă de cele de azot. Prezenţa scheletului carbonic ca o condiţie indispensabilă pentru existenţa oricărui compus organic explică importanţa biologică deosebită a carboautotrofismului.

Prezenţa scheletului carbonic nu este însă suficientă pentru asigurarea vieţii, fenomenele vitale neputînd decurge în absenţa proteinei vii şi a fermenţilor, care catalizează toate procesele plastice şi energetice. Proteinele diferitelor organisme sînt formate în general din aceiaşi aminoacizi, iar fermenţii par să conţină la toate organismele aceiaşi cofermenţi. Din această cauză, la toate organismele vor apărea aceleaşi necesităţi în aminoacizi pentru sinteza proteinelor, în baze purinice şi pirimidinice pentru sinteza acizilor nucleici din nucleoproteide şi în compuşi cu funcţii de coenzime (cea mai mare parte a vitaminelor).

În cazul cînd un microorganism poate sintetiza toţi aminoacizii de care are nevoie din amoniac sau compuşi din care se

formează amoniac (NO_3, NO_2, N_2) și o sursă accesibilă de carbon, el este considerat aminoautotrof. Cînd un microorganism necesită un aport de aminoacizi preformat din mediul ambiant, el este considerat aminoeterotrof.

Se consideră auxoautotrofe organismele care nu necesită un aport de vitamine din mediul ambiant și auxoeterotrofe, cele care necesită un aport de vitamine, care servesc mai ales pentru formarea grupărilor lor coenzimatice (114), (68), (130) [1]).

În cazul amino-și auxoeterotrofismului, putem găsi grade diferite de eterotrofism, unele microorganisme necesitînd aportul unei singure vitamine sau al unui singur aminoacid, în timp ce altele nu pot crește decît în medii complexe cu un număr mare de aminoacizi sau vitamine. Deosebirile mari cu privire la necesitățile în aminoacizi, purine, pirimidine și vitamine ale diferitelor microorganisme permit o analiză mult mai amănunțită a condițiilor apariției auxo- și aminoeterotrofismului, decît cea care se poate face în cazul carboautotrofismului.

Înainte de a trece la analiza factorilor din mediu care au dus la apariția diferitelor grade de eterotrofism, ne vom ocupa pe scurt de factorii care au determinat la un număr mare de microorganisme, foarte diferite, dispariția mai frecventă a capacității de a sintetiza anumiți aminoacizi sau vitamine (triptofan sau acidul nicotinic, de exemplu) și păstrarea capacității de sintetizare a altora.

Studiul cerințelor nutritive ale microorganismelor a arătat că multe din ele pot utiliza ionul amoniu și o sursă accesibilă de carbon pentru sinteza tuturor componentelor azotate din organismul lor. Ionul amoniu se poate obține și prin reducerea nitraților și nitriților și constituie probabil o etapă importantă în fixarea azotului atmosferic (W i n o g r a d s k i).

Unele microorganisme pot utiliza și amoniacul provenit din dezaminarea unor aminoacizi și mai frecvent încă amoniacul provenit din dezaminarea asparaginei și glutaminei.

---

[1]) Dat fiind că aminoacizii și vitaminele sînt deseori absolut necesari și că fără ei creșterea nu este posibilă, ei au fost denumiți și factori de creștere. Acest termen a fost considerat nesatisfăcător de către o serie de cercetători ca M a i s e l sau I e r u s a l i m s k i. Ei consideră că efectul asupra creșterii este un efect final, vitaminele și aminoacizii putînd influența numai procesele metabolice sau morfogenetice, fără repercusiuni directe asupra creșterii.

Scanned with OKEN Scanner

În toate aceste cazuri, aminoacizii sînt utilizaţi numai într-o mică măsură ca atare (în funcţie de proporţia lor în proteinele microorganismului) şi în cea mai mare parte ca sursă nespecifică de amoniu, ei putînd fi înlocuiţi prin alţi aminoacizi (faţă de care microorganismul posedă dezaminaze) sau printr-o altă sursă accesibilă de amoniu [1]). Deci în acest caz nu există o deosebire esenţială între utilizarea ca sursă de azot a amoniacului, a nitraţilor sau a unui aminoacid ca singura sursă de N şi C. Prin procesul de fixare a aminoacidului de ceto- şi axiacizi şi prin procesul de transaminare, se formează apoi toţi aminoacizii din proteinele microorganismului respectiv.

O serie de microorganisme au pierdut însă capacitatea de a sintetiza scheletul carbonic al unor aminoacizi. În cazul acesta, aminoacizii nu mai pot fi înlocuiţi cu o sursă nespecifică de amoniu care să asigure sinteza lor şi devin un factor indispensabil din mediul ambiant, microorganismul transformîndu-se aminoeterotrof.

Scheletul carbonic al diferiţilor aminoacizi se formează cu o greutate diferită. Formarea scheletului carbonic al unor aminoacizi ca alanina, acidul glutamic, leucina, glicocolul etc. a căror sinteză este legată mai mult sau mai puţin imediat de procese cheie ale metabolismului intermediar, poate fi relativ uşor realizată de cele mai diferite microorganisme. Alţi aminoacizi, cum ar fi triptofanul sau lizina, sînt legaţi printr-un număr mare de reacţii, realizate de sisteme enzimatice diferite, de procesele metabolice centrale ale organismului, sinteza lor făcîndu-se mai greu. În urma creşterii microorganismelor în medii bogate în aminoacizi, dispare în primul rînd capacitatea de sinteză a acelor aminoacizi care se sintetizează mai anevoios [2]).

Pierderea capacităţii de a sintetiza unii aminoacizi nu implică însă pierderea capacităţii utilizării amoniului pentru sinteza altor aminoacizi, ionul amoniu putînd fi utilizat probabil de absolut toate microorganismele. Acest fenomen constituie una din deosebirile esenţiale între amino- şi carboeterotro-

---

[1]) Aminoacizii care participă la procesele de transaminare (acidul glutamic, aspartic, alanina şi într-o mai mică măsură alţi aminoacizi) pot fi utilizaţi şi fără o dezaminare prealabilă.

[2]) De igur că în această privinţă există şi multe excepţii, care se pot explica prin condiţiile speciale de nutriţie în care s-au dezvoltat speciile respective.

Scanned with OKEN Scanner

fism. Pe cînd nici un carboeterotrof nu poate sintetiza complet un compus organic din bioxid de carbon, pe care îl poate utiliza numai pentru lungirea unor catene de carbon preexistente, chiar aminoautotrofii cei mai specializaţi pot utiliza NH_3 pentru sinteza unora dintre aminoacizi, aminoeterotrofismul fiind totdeauna amestecat cu un grad mai mare sau mai mic de aminoautotrofism.

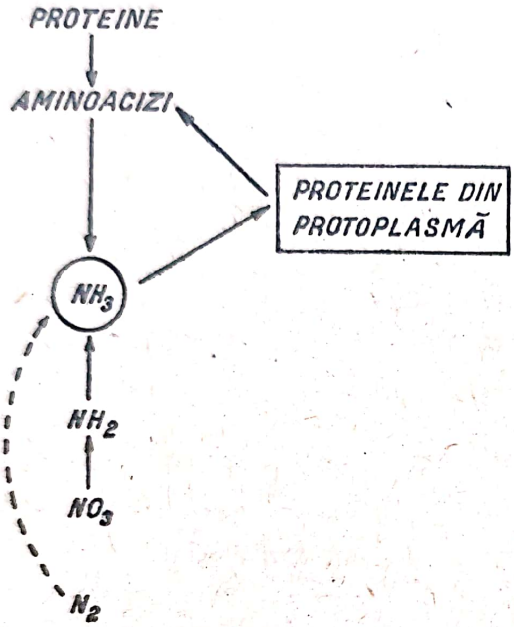


Fig. 4. — Legătura dintre diferitele tipuri de nutriţie azotată.

În figura 4 redăm în mod schematic legătura dintre diferitele tipuri de nutriţie azotată (după K o s t î c e v).

Mult mai răspîndit decît aminoeterotrofismul este însă auxoeterotrofismul.

La multe enzime, grupările prostetice (cofermenţii) sînt destul de complexe, cuprinzînd deseori şi nuclei ciclici şi eterociclici, care sînt greu de sintetizat de către organism. Din această cauză, auxoeterotrofismul apare la bacterii înaintea aminoeterotrofismului.

La microorganisme pot avea rol de vitamine şi unii compuşi, care se pare că nu au funcţii de cofermenţi, cum ar fi acidul oleic la B. difteric, colina pentru unii pneumococi sau inozitolul, care pare să aibă un rol important în metabolismul intermediar al grăsimilor, în parte neelucidat.

Cerinţele microorganismelor în aminoacizi şi vitamine corespund proporţiei acestor compuşi în celula microbiană. Cantitatea de vitamine necesare variază între 0,1 şi 1 mg la l, cea de purine şi pirimidine este de 5—10 mg la l, iar cea de aminoacizi de 50—200 mg la l.

Dăm în cele ce urmează unele date privind necesităţile în aminoacizi ale unor bacterii şi în vitamine ale unor levuri şi bacterii.

Din analiza tablourilor nr. 1—3 reiese că substanţele cu rol de vitamine sînt în linii mari identice la animale şi la microorganisme. Totuşi, aceleaşi substanţe pot avea uneori funcţii di-

Tabloul nr. 1

Cerinţele în aminoacizi ale unor microorganisme

(după Ierusalimski)

Denumirea aminoacidului	Denumirea organismelor							
	Animal	Streptococ hemolitic	Lactobacillus casei	Streptococcus	B. difterici		Stafilococ auriu	B tific
					HX	PW 8		
Lizină	+	+	±	+	—	—	—	—
Arginină	±	+	+	+	—	—	—	—
Histidină	+	+	±	—	—	—	—	—
Fenilalanină	+	+	+	—	+	—	—	—
Tirozină	—	+	+	±	—	—	—	—
Triptofan	+	+	+	+	+	—	+	+
Prolină	—	+	—	—	—	—	—	—
Glicocol	—	+	—	+	+	—	—	—
Alanină	—	+	±	+	—	—	—	—
Valină	+	+	+	—	+	+	—	—
Leucină	+	+	+	+	—	+	—	—
Izoleucină	+	+	±	+	—	—	—	—
Serină	—	+	+	+	—	—	—	—
Treonină	+	+	±	+	—	—	—	—
Cistină	—	+	+	±	+	+	+	—
Metionină	+	+	±	—	+	+	—	—
Acid aspartic	—	—	+	+	—	—	—	—
Acid glutamic	—	+	+	+	+	+	—	—

Tabloul nr. 2

Necesităţile în vitamine ale unor levuri

(după Maisel)

Denumirea levurii	Biotină	Vitamină B_2	Acid pantotenic	Vitamină B_6	Acid nicotinic	Inozită	Acid paraaminobenzoic	Aminoacizi
Torulopsis utillis	—	—	—	—	—	—	—	—
Candida chalmersi	+	—	—	—	—	—	—	—
Rhodotorula rubra	—	+	—	—	—	—	—	—
Rhodotorula aurantiaca	—	+	—	—	—	—	+	—
Endomyces magnusii	+	+	—	—	—	—	—	—
Saccharomyces cerevisae	+	+	+	—	—	—	—	—
Saccharomyces carlsbergensis	+	+	+	+	—	—	—	—
Saccharomyces ludwigii	+	+	+	+	+	+	—	—
Schizosaccharomyces actosporus	+	—	+	—	+	+	+	—
Kloeckera brevis	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabloul nr. 3

Necesitățile în vitamine ale cîtorva specii bacteriene

Organism	Biotină	Acid nicotinic	Acid pantotenic	Piridoxină	Riboflavină	Acid paraaminobenzoic	Tiamină	Diverse vitamine
Acetobacter suboxidans		+	+	+		+		
B. proteus .			+					
Staphylococcus aureus . .	+	+		+			+	Uracil
Brucella abortus . .	+	+	+				+	
Cl. tetani . .	+ sau acid pimelic	+	+					Acid oleic
Lactobacillus arabinosus	+	+	+			+		Acid folic Purine Pirimidine etc.
Lactobacillus casei . . .	+	+	+	+	+	+	+	Purine Acizi grași etc.
Letospira canicola		+			+			Ser, uracil
Streptococcus plantarum	+	+	+	+	+	+	+	Purine
Corinebacterium diphteriae	+ Acid pimelic	+	β± alanină					

\+ = Factorul de creștere este necesar.

ferite la animale și la microorganisme. Colina de exemplu pare să aibă la microorganisme și un alt rol decît cel de transportor de grupări metil, pe care îl are în organismul animal. Cistina

nu are la unele microorganisme numai rolul de componentă celulară importantă, ci participă şi la crearea unor anumite condiţii de oxidoreducere în mediul ambiant etc.

Ca urmare a necesităţilor comune în anumite substanţe corespunzînd unor mecanisme fiziologice de bază, comune tuturor organismelor vii) au apărut între diferite specii de microorganisme sau între micro- şi macroorganisme o serie de interrelaţii de simbioză, substanţele sintetizate de o specie avînd rolul de vitamine pentru altele. Totuşi există unele deosebiri între bacterii şi animale în privinţa necesităţilor în vitamine şi aminoacizi din mediu. Bacteriile nu au nevoie de vitaminele C, E, D şi K, cu toate că vitamina K, de exemplu, este sintetizată în cantităţi mari de unele microorganisme. În schimb, multe bacterii au nevoie de un aport de hemină, coenzimă I, nicotinamidă, cisteină, acid glutamic etc., pe care organismele animale le pot sintetiza. Auxinele care au un rol important în procesele de creştere a plantelor, par să aibă numai un rol nespecific, de stimulare a creşterii la unele bacterii, fiind în acelaşi timp inhibante pentru altele.

Microorganismele diferă însă de animale în primul rînd prin deosebirile mari dintre cerinţele în vitamine şi aminoacizi ale diferitelor specii. Dacă în regnul animal găsim în linii mari aceleaşi necesităţi în vitamine şi aminoacizi la microorganisme aceste necesităţi pot varia de la autotrofismul complet faţă de factorii de creştere, pînă la necesitatea prezenţei a peste 40 de substanţe diferite în mediul de cultură. Aceste deosebiri mari în cerinţe de factori de creştere, care corespund deosebirilor mari ale tipului de metabolism, care se întîlnesc la microorganisme, pot fi explicate numai privind microorganismele din punctul de vedere al evoluţiei lor istorice, sub influenţa mediului ambiant.

Schopfer, Lwoff ş. a. privesc aminoeterotrofismul şi auxoeterotrofismul ca un rezultat al pierderii capacităţilor de sinteză în urma unor mutaţii spontane. Mai ales A. Lwoff (125) consideră că evoluţia microorganismelor ar consta numai în pierderi de capacităţi de sinteză, neexistînd posibilitatea apariţiei unor enzime sau capacităţi de sinteză noi. În aceste afirmaţii, el se bazează pe teoria metafizică a genelor, care nu admite formarea unor gene cu totul noi. Această teorie idealistă a fost infirmată de un număr mare de date experimentale. Cercetările lui P. Fieldes şi colaboratori (36) au arătat posibili-

tatea dobîndirii capacității de sinteză a triptofanului de către B. tific, cele ale lui N. D. Ierusalimski (71), Lindgreen, P. Berand (12) ș. a., arată și ele posibilitatea dobîndirii de capacități de sinteză a unor aminoacizi și factori de creștere. Berand a putut arăta că dobîndirea de noi capacități de sinteză de către levuri este un proces activ, iar Leonian și Lilly au găsit că dobîndirea capacității de sintetizare a unor vitamine mărește concomitent și capacitatea de a sintetiza alte vitamine. Gale a găsit că în urma adaptării la penicilină a unor microbi Gram-pozitivi are loc în mod indirect și creșterea capacității de sinteză a unor aminoacizi, a căror acumulare din mediu este împiedicată de penicilină etc.

Însă nici pierderea capacității de sinteză nu are loc în felul presupus de morganiști. Acționînd cu factori fizici și chimici de intensitate mare, ei obțin organisme deficiente care reprezintă de fapt „invalizi metabolici", care nu pot concura cu alte specii în condiții naturale. Apariția eterotrofismului în condiții naturale reprezintă de fapt înlocuirea mecanismului foarte complex de sinteză al unor compuși celulari absolut necesari, prin procurarea lor în stare preformată din mediul ambiant. Utilizarea compușilor preformați permite organismului respectiv să folosească energia care ar fi fost necesară pentru sinteza lor, în alte procese vitale, ceea ce asigură de obicei organismului o dezvoltare mai rapidă în comparație cu formele inițiale autotrofe.

Cea mai bună exemplificare a avantajelor eterotrofismului în medii bogate a fost făcută cu ajutorul mediilor selective ale lui Winogradski. Pe mediile cele mai bogate cresc numai speciile cele mai exigente, iar pe măsură ce se întrebuințează medii mai sărace, pot crește și microorganismele mai puțin exigente, care nu mai sînt eliminate de speciile eterotrofe.

Una din dovezile principale pentru faptul că auxo-și aminoeterotrofismul reprezintă adaptări active la medii mai bogate, și nicidecum simple pierderi de capacități de sinteză, o constituie proprietățile nou dobîndite de către auxo- și aminoeterotrofi.

Microorganismele carboautotrofe, care au cea mai mare capacitate de sinteză, nu pot utiliza aminoacizi din mediul ambiant. Fixatori de azot ca *Azotobacter* și alte microorganisme adaptate la condiții de hrană săracă posedă și ele posibilități reduse de utilizare a unor aminoacizi. La aminoeterotrofi se

lărgește capacitatea de utilizare a aminoacizilor și apar frecvent peptidaze și proteaze care permit scindarea polipeptidelor și proteinelor. Noi am putut dovedi experimental acest lucru la *Azotobacter croococcum* (179), unde odată cu pierderea capacității de a fixa azotul atmosferic de către variantele obținute experimental, apare capacitatea de a utiliza aminoacizi inaccesibili tulpinii de origine, iar la una din variante apare și o exoprotează.

La specii patogene pentru animale, care ating uneori un grad foarte înalt de eterotrofism, apar deseori funcțiuni noi legate de interrelațiile cu macroorganismul, ca secretarea de hialuronidază sau de toxine etc., care duc la o utilizare mai bună a substanțelor produse de macroorganism, o invadare mai ușoară a macroorganismului și la blocarea mecanismelor de apărare ale acestuia.

Apariția auxoeterotrofismului și a aminoeterotrofismului nu este deci o simplă pierdere întîmplătoare a capacității de sinteză, ci este o adaptare activă a microorganismelor la modificarea condițiilor de viață. Această adaptare prezintă avantaje în condiții de viață în care lupta pentru hrană între diferitele specii este deosebit de aprigă. Din această cauză apariția aminoeterotrofismului și a auxoeterotrofismului, și mai ales gradul de eterotrofism, pot fi înțelese numai în funcție de condițiile de viață ale speciilor respective.

Dăm cîteva exemple în această privință: Ierusalimski și colaboratori au observat că bacteriile butirice din tancurile de purificare a apelor de scurgere, foarte bogate în substanțe organice, au cerințe foarte mari și în vitamine și în aminoacizi. Bacteriile butirice din bălegar (un mediu mai sărac decît primul) sînt aminoautotrofe (cu toate că dezvoltarea lor este stimulată de prezența unor aminoacizi preformați) și auxoeterotrofe. Bacteriile butirice din sol sînt complet aminoautotrofe și auxoeterotrofe.

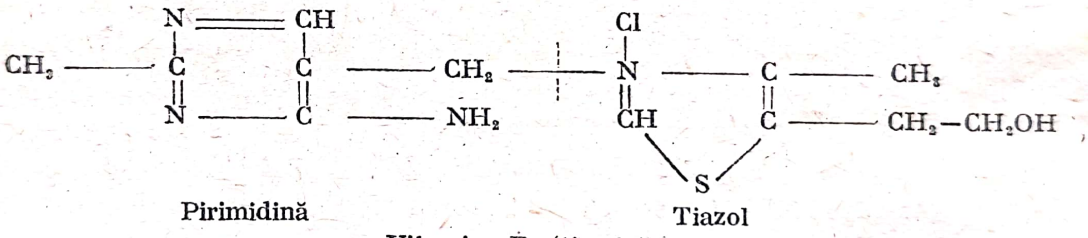
Fixatorul de azot *Azotobacter croococcum*, adaptat la medii sărace, sintetizează cantități mari de vitamine din grupul B, pe cînd fixatorul de azot simbiont *Rhizobium*, care obține factori de creștere preformați de la plante-gazdă este auxoeterotrof în privința biotinei și a altor vitamine. Bacteriile care parazitează animalele sînt de obicei mai eterotrofe decît paraziții plantelor. Cu toate că nu s-au putut încă stabili în toate cazurile corelațiile directe care există între gradul de eterotro-

fism şi condiţiile de viaţă, microorganisme foarte apropiate filogenetic avînd uneori un grad de eterotrofism foarte diferit, totuşi în linii mari, s-a putut arăta această legătură. Stabilirea sa a permis clasarea microorganismelor din acest punct de vedere în mai multe categorii.

Clasificarea microorganismelor după gradul de eterotrofism este uşurată şi de faptul că unele microorganisme au nevoie numai de anumite fracţiuni mai greu sintetizabile din molecula de vitamine, iar altele de întreaga moleculă.

Acidul nicotinic, de exemplu, serveşte atît la animale, cît şi la microorganisme, mai ales ca sursă de nicotinamidă[1]), o componentă a moleculei codehidrazelor I şi II. Organismele auxoautotrofe sintetizează molecula de acid nicotinic. *Proteus vulgaris* sau Stafilococul auriu necesită însă un aport de acid nicotinic din care sintetizează mai departe amida acidului nicotinic şi codehidraza. Unele Pasteurelle necesită un aport de nicotinamidă preformată, neputînd transforma acidul nicotinic în nicotinamidă, iar unele bacterii hemofile au nevoie de codehidrază sau de compuşi foarte apropiaţi de ea, cum ar fi dezaminocodehidraza. Însă chiar la aceste bacterii se observă o uşurinţă mai mare în sintetizarea componentei adenilice a codehidrazei din compuşi apropiaţi, decît a nicotinamidei.

Deosebit de demonstrative sînt datele obţinute în urma studiului capacităţii de sinteză a vitaminei B_1 (tiamina).



Vitamina B_1 (tiamină).

Microorganismele se împart din acest punct de vedere în 5 grupe (Maisel):

1. Microorganisme lipsite de capacitatea de a sintetiza tiazolul (*Mucor ramaniamus, Endomyces magnusi*, unele hidrogenbacterii).
2. Lipsiţi de capacitatea de a sintetiza nucleul pirimidinic (*Endomyces vernalis*, unele *Saccharomyces, Dematium nigrum*, unele hidrogenbacterii etc.).
3. Nu pot sintetiza nici tiamina şi nici pirimidina, însă le pot reuni cînd ele se găsesc în mediu (*Phycomyces blakesleeanus* şi *Phycomyces nitens*, Stafilococul auriu etc.).
4. Pot sintetiza tiazolul şi pirimidina însă nu le pot uni (*Phytopthora, Glaucoma piriformis*).
5. Pot sintetiza tiamina, însă nu o pot fosforila în codecarboxilază.

---

[1]) Acidul nicotinic pare să aibă şi alte funcţiuni, în afară de cea de sursă de nicotinamidă; astfel el are o influenţă mai favorabilă asupra bacteriei *Shigella paradysenteriae* decît nicotinamida sau codehidraza I.

În cazul tiaminei se poate observa deci, în afară de o anumită gradaţie a auxoeterotrofismului, şi o pierdere oarecum independentă a capacităţii de a sintetiza diferitele componente ale codecarboxilazei.

Date analoge au fost găsite şi la acidul pantotenic, pe care unele levuri şi *Corynebacterium diphteriae* o pot sintetiza plecînd de la β-alanină, în timp ce alte microorganisme (*Corynebacterium diphteriae* de tipul *gravis*, tulpini de streptococi, B. tetanic etc.) au nevoie de molecula întreagă de acid pantotenic.

O gradaţie de acelaşi fel se cunoaşte şi în privinţa biotinei.

Cerinţele gradate în privinţa factorilor de creştere şi a predecesorilor acestora l-au determinat pe Ierusalimski să împartă microorganismele în funcţie de necesităţile lor în vitamine, în următoarele categorii :

1. Gradul cel mai înalt de eterotrofism îl prezintă unii microbi specializaţi în parazitism, care nu pot trăi liberi (unii streptococi patogeni, cîţiva bacili anaerobi şi unele tripanosome) şi unele specii de saprofiţi, adaptate la medii foarte bogate (produse lactate, unele resturi vegetale).

Aceste microorganisme au nevoie de 10—15 aminoacizi iar vitaminele au la ele mai ales roluri de factori obligatori de creştere şi nu de simpli stimulatori. El utilizează numai molecula întreagă de vitamine (acid folic, acid pantotenic, codehidraza I, hemină) pe care nu le pot sintetiza din resturi mai simple.

2. Al doilea loc în privinţa gradului de eterotrofism îl ocupă marea majoritate a bacteriilor patogene, dintre care unele trăiesc şi în stare liberă, unii saprofiţi care trăiesc în medii bogate în resturi organice, precum şi acei lactobacili care nu face parte din primul grup.

Numărul de aminoacizi necesari devine mult mai mic, bacteriile din acest grup prezintă necesităţi mai ales în vitamine termostabile (biotină, piridoxină), ele putînd însă utiliza şi resturi din vitamine mai complexe (β-alanină, pirimidină, acid pimelic, acid p-aminobenzoic). Din ceastă categorie fac parte B. difteric, B. tific, Stafilococul auriu etc.

3. Al treilea grup este format de microorganismele aminoautotrofe, pentru care unii aminoacizi favorizează creşterea şi la care se păstrează un anumit grad de auxoeterotrofism. Din acest grup fac parte multe microorganisme care trăiesc libere în natură (levuri, bacterii care produc fermentaţia butirică, acetică, acetono-etilică, propionică etc.) ca şi majoritatea bacteriilor de putrefacţie şi a ciupercilor parazite.

Scanned with OKEN Scanner

4. Din cel de al patrulea grup fac parte amino- şi auxo-autotrofii. O parte din reprezentanţii acestui grup pot utiliza, în afară de zotul amoniacal, şi pe cel din nitriţi şi nitraţi, unii din ei putînd utiliza chiar şi azotul atmosferic.

Din acest grup fac parte multe bacterii din sol şi bazine de apă sărace în substanţe organice, ciuperci, actinomicete, bacili Gram-negativi (denitrificatori, fixatori de azot) etc.

5. De cel de al cincilea grup (al carboautotrofilor), care prezintă cel mai înalt grad de autotrofism, ne-am ocupat în capitolul anterior.

Tabloul nr. 4 ilustrează pe scurt cele expuse pînă aici.

Tabloul nr. 4

Clasificarea microorganismelor după cerinţele lor în vitamine şi aminoacizi

(după Ierusalimski)

Gradul de eterotrofism	Necesităţi în substanţele de mai jos				
	Aminotrofismul		Auxotrofismul		Carbotrofismul
	Aminoacizi preformaţi	Azot redus (NH_3)	Vitamine complexe termolabile	Resturi de vitamine complexe şi vitamine termolabile	Carbon organic
1	+	+	+	+	+
2	±	+	—	+	+
3	—	+	—	±	+
4	—	—	—	—	+
5	—	—	—	—	—

\+ substanţe necesare în mod obligator
± substanţe care accelerează creşterea
— substanţe în lipsa cărora microbii se dezvoltă normal

Cerinţele în aminoacizi şi vitamine permit deci o caracterizare destul de precisă a diferitelor grupe de microorganisme în funcţie de mediul lor ambiant.

Categoriile expuse aici reprezintă totuşi numai un cadru general al cerinţelor în vitamine şi aminoacizi ale diferitelor grupe de microorganisme, cadru care necesită precizări pentru fiecare caz în parte.

Cerinţele în aminoacizi şi vitamine nu privesc numai felul şi cantitatea de aminoacizi şi vitamine din mediu, dar şi proporţia lor.

Scanned with OKEN Scanner

Aceste necesităţi depind şi de condiţiile de viaţă ale microorganismelor, de stadiul lor de dezvoltare, de prezenţa în mediu a produşilor reacţiilor pe care le catalizează etc. Toate aceste fapte sînt deosebit de importante pentru stabilirea legăturilor reale dintre microorganisme şi mediul ambiant.

Astfel, Fromageot şi colaboratori au arătat că în prezenţa glucozei, *Rhodotorula aurantia* are nevoie de vitamină B_1, pe cînd în mediu cu glicerină ea nu are nevoie de această vitamină. La *Phycomyces blakesleeanus*, necesităţile în tiamină depind în mare măsură de hrana azotată. În prezenţa bioxidului de carbon, streptococul hemolitic nu are nevoie de adenină în mediul de cultură etc.

Aerobioza şi anaerobioza au şi ele o influenţă pronunţată asupra necesităţilor în factori de creştere. Stafilococul auriu are nevoie de uracil numai în anaerobioză, acumularea de vitamină B_6 la *Aerobacter aerogenes* creşte de 2—3 ori în anaerobioză, la fel şi necesităţile de vitamină B_1 la levuri. Un fenomen asemănător se observă la toţi anaerobii facultativi, în privinţa flavinelor. În schimb, necesităţi de hemină apar la hemofili numai în condiţii de aerobioză [1]).

Prezenţa produşilor finali ai reacţiilor fermentative, în care vitaminele au rol de coferment, are şi ea o influenţă deosebit de mare asupra necesităţilor în vitamine ale microorganismelor.

E. coli, de exemplu, care a pierdut capacitatea de a sintetiza vitamina B_{12} care intervine în sinteza nucleoproteinelor, o poate înlocui cu acid desoxiribonucleic. Acidul folic are un rol important în sinteza purinelor şi a metioninei. În urma blocării sintezei acidului folic cu ajutorul sulfamidelor care au o structură analogă cu acidul paraminobenzoic (o componentă a acidului folic), are loc oprirea creşterii, mai ales prin împiedicarea sintezei metioninei şi a purinelor. Creşterea poate fi reactivată prin adăugare de metionină la mediul de cultură şi în special prin adăugare de purine. La lactobacili, creşterea poate fi asigurată în absenţa vitaminei B_6, care are un rol important în metabolismul aminoacizilor, prin adăugare de lizină, treonină, alanină şi cisteină la mediul de cultură. Biotina poate fi înlocuită parţial la unele bacterii prin acizi graşi, iar la *Torula cremonis* ea poate fi înlocuită prin acid aspartic.

Aceste exemple arată că microorganismele au pierdut capacitatea de sinteză a vitaminelor, probabil nu numai în urma prezenţei în mediu a vitaminelor respective, dar şi a produşilor finali ai reacţiilor catalizate de aceste vitamine.

---

[1]) Toţi aceşti factori capătă o importanţă deosebită atunci cînd microorganismele se utilizează pentru dozarea vitaminelor.

Scanned with OKEN Scanner

Pentru interrelațiile dintre microorganisme și mediu nu are importanță numai prezența sau absența vitaminelor, ci și cantitatea lor în mediu, ca și prezența altor vitamine.

În această privință, o atenție deosebită trebuie acordată lucrărilor lui Maisel (130), (131), care au arătat că structurile celulare și procesele metabolice ale levurilor pot fi influențate în mod specific de variația cantității de vitamine, aceste modificări apărînd mult mai precoce decît cele ale vitezei de creștere, care uneori nu este influențată [1]).

Maisel a putut arăta la levuri și fenomene de hipervitaminoză, analoge cu fenomenele de hipervitaminoză a animalelor. La *Endomyces magnusi* se observă în aerobioză, în cazul unui exces de vitamină B_1 în mediul de cultură, modificări de structură internă, o acumulare de glicogen și volutină, schimbări în cantitatea proteinelor etc., analoge cu cele care se observă în mod normal în anaerobioză.

Interrelațiile strînse în activitatea diferitelor vitamine se pot constata și în alte cazuri. Maisel a arătat la o anumită rasă de *Saccharomyces ellipsoideus,* necesitatea unui aport de acid pantotenic și biotină ca factori de creștere obligatori, și de vitamină B_1, ca factor de creștere accesoriu ; în cazul lipsei vitaminei B_1 din mediu, apar însă și necesități de inozită. Avitaminoza B_1 apare mai repede în prezența biotinei, fiindcă aceasta, stimulînd creșterea, accentuează și mai mult necesitățile în vitamină B_1 etc.

Maisel a arătat că lipsa unei singure vitamine poate avea uneori, prin desechilibrul metabolic pe care îl provoacă, un efect mai pronunțat decît lipsa simultană a mai multor vitamine.

Vedem deci că legăturile între vitaminele din mediu și diferitele specii de microorganisme sînt uneori deosebit de complexe, cu toate că în linii mari vitaminele corespund la grupări coenzimatice, identice la toate organismele vii.

Acest fapt constituie în același timp încă o dovadă importantă pentru teza de bază a miciurinismului, că nu există nici o proprietate, oricît de generală ar fi ea, care să nu se fi format în strînsă legătură cu mediul ambiant.

---

[1]) Prin urmărirea modificărilor de structură internă, Maisel și colaboratori au putut decela prezența cîtorva vitamine ca tiamina și biotina în aer, unde ele nu au putut fi determinate prin nici o altă metodă.

Date analoge cu cele găsite la vitamine au fost găsite şi în cazul aminoacizilor.

Cercetările lui Gladstone şi colaboratori au arătat că aminoacizii leucină, treonină şi acidul α-aminobutiric sînt toxice pentru bacilul cărbunos şi că acţiunea lor este compensată de valină, şi viceversa. Efectul toxic al izoleucinei, norleucinei şi serinei este neutralizat de amestecul valină şi leucină, iar efectul toxic al serinei poate fi anihilat de treonină. La *Lactobacillus arabinosus* se observă un antagonism între acidul glutamic şi aspartic, însă numai la un pH acid ; cerinţele de treonină şi serină depind însă la lactobacili şi de alţi factori, ca prezenţa ionilor Fe sau Mg. Un efect toxic pronunţat asupra bacteriilor, anihilat de către l-aminoacizi, îl au şi unii d-aminoacizi. După părerea lui Gauze, efectul antibacterian al unor antibiotice se datoreşte tot d-aminoacizilor pe care le conţin [1]) (147), Leontiev (121) a găsit că d-serina inhibă în mod specific formarea toxinei tetanice, fără să influenţeze creşterea germenului.

Unele microorganisme nu cer numai prezenţa unui anumit amestec de aminoacizi, dar şi o anumită proporţie a acestora. *Leuconostoc mesenteroides,* de exemplu, prezintă cerinţe anormal de mari de arginină în prezenţa unor cantităţi limitate de prolină.

Alţi factori, cum ar fi temperatura sau sursa de carbon influenţează şi ei cerinţele în aminoacizi ale microorganismelor. *Lactobacillus arabinosus* nu poate creşte la 37° într-un mediu în care lipseşte fenilalanina şi tirozina, iar la 39° are nevoie de acid aspartic. Cercetări mai amănunţite au arătat că acest fapt se datoreşte variaţiilor de solubilitate a bioxidului de carbon la diferite temperaturi, sinteza acestor aminoacizi depinzînd de prezenţa bioxidului de carbon în mediu. Cercetările lui A. S. Konikova şi N. N Dobert (93) au arătat că la *B. brevis* aminoautotrofismul poate depinde şi de sursa de carbon. În prezenţa acidului piruvic, *B. brevis* utilizează, pentru sinteza aminoacizilor, amoniac, dar nu-l utilizează în prezenţă de glucoză sau acid acetic.

În mediile naturale, aminoacizii nu sînt decît rareori în stare liberă ; de cele mai multe ori ei se găsesc sub formă de

---

[1]) Gauze a arătat că există o anumită relaţie între mărimea moleculei d-aminoacidului şi efectul său toxic.

peptide și proteine. S-a constatat că uneori peptidele pot avea asupra microorganismelor, un efect cu totul diferit față de aminoacizii din care sînt formați. I. Frutton și S. Simmons (37) au găsit că diferitele peptide ale prolinei (și mai ales glicil-prolina) au un efect de stimulare mult mai pronunțat asupra variantelor de *E. coli* care nu pot sintetiza prolina, decît prolina singură. Amestecul aminoacizilor respectivi nu are acest efect. La streptococii din grupul D, peptidele argininei stimulează creșterea într-o măsură mult mai pronunțată decît arginina. La *Lactobacillus arabinosus* s-a găsit o importantă activitate de stimulare a creșterii de către produșii de degradare incompletă a proteinelor de tipul streptogeninei. Pentru unele bacterii, peptidele nici nu pot fi înlocuite cu aminoacizi. Astfel, la o tulpină de *Alcaligenes faecalis*, leucil-glicina permite o creștere bună, în timp ce în amestecul de leucină + glicocol, acest microorganism nu se dezvoltă de loc. Date analoge au fost găsite și la o bacterie izolată de S. Simmons și I. Frutton, care poate utiliza leucil-glicina, și nu glicil-leucina ; tulpina nu utilizează leucina, iar glicocolul are asupra ei o acțiune toxică. Deosebit de important, pentru metabolismul bacteriilor este și glutationul, un tripeptid care intervine în procesele de oxido-reducere și care stimulează creșterea unui număr mare de bacterii.

Pe lîngă peptidele cu activitate de stimulare a creșterii, se cunosc și peptide cu o pronunțată acțiune bactericidă și bacteriostatică, de tipul gramicidinei, tirocidinei și polimixinele, care au căpătat, în parte, aplicații practice.

Studiul influenței concentrației vitaminelor și a aminoacizilor, a amestecului de vitamine și aminoacizi, a peptidelor și a altor factori care intervin în nutriția azotată, a arătat complexitatea problemei creării unor medii nutritive care să corespundă cerințelor naturale ale microorganismelor, problemă a cărei rezolvare este deosebit de importantă pentru multe ramuri ale microbiologiei medicale, agricole și industriale.

Probleme importante, ca aceea a specificității microorganismului parazit față de țesuturile macroorganismului, ca și multe alte probleme ale nutriției microorganismelor, nu pot fi nici ele rezolvate fără a ține seamă de toți acești factori.

După cum au arătat Ierusalimski, Kalina și alți cercetători, cerințele în vitamine și aminoacizi depind într-o bună măsură de stadiul de dezvoltare a microorganismului,

Scanned with OKEN Scanner

ceea ce accentuează și mai mult necesitatea studiului aprofundat al cerințelor în vitamine și aminoacizi ale fiecărei specii de microorganism în parte.

Ca o concluzie generală a problemelor atinse de noi în această parte a lucrării, putem afirma că studiul cerințelor în vitamine și aminoacizi ilustrează și el într-un mod foarte elocvent cele două aspecte principale ale metabolismului. Pe de o parte, vitaminele și aminoacizii sînt aceleași pentru toate organismele vii, fie că se obțin în stare preformată din mediu, fie că sînt sintetizate de organismul respectiv, și pe de altă parte, cerințele în vitamine și aminoacizi din mediul ambiant sînt din cele mai specifice, ele caracterizînd în mod perfect specia sau varietatea respectivă.

Studiul cerințelor în vitamine și aminoacizi nu poate privi însă factori de creștere izolați, ci trebuie să țină seamă de întregul complex de factori nutritivi din mediu, de proporția vitaminelor și a aminoacizilor în mediu, de vîrsta culturii etc., care toate împreună determină necesitățile reale ale unor culturi în vitamine și aminoacizi, ca și efectul acestora asupra metabolismului.

Cerințele strict specifice în factori, în esență comuni tuturor organismelor vii, ca vitaminele și aminoacizii, ca și strînsa legătură cu mediul a unor organisme aparent independente de mediu, cum sînt autotrofii, dovedesc și ele că cerințele în orice substanță organică și anorganică pot fi înțelese numai dacă se ține seama de mediul în care trăiește organismul, ca și de evoluția filogenetică a speciei respective.

CAPITOLUL III

ADAPTĂRI FAȚĂ DE FACTORII FIZICI DIN MEDIUL AMBIANT

Condițiile de pH, temperatură, presiune osmotică, tensiune superficială, ca și alți factori fizici, au o influență foarte mare asupra desfășurării proceselor vitale ale oricărui organism viu.

Există anumite proprietăți ale mediului înconjurător care sînt optime pentru majoritatea corpurilor vii. Un pH neutru al mediului ambiant, temperaturi între 20—30°, o presiune os-

Scanned with OKEN Scanner

motică corespunzătoare la soluții de 0,6—0,9% NaCl, sînt optime pentru un număr mare de organisme mono- și pluricelulare. Față de astfel de condiții ale mediului, vom găsi cu greu adaptări foarte caracteristice, care să ducă la apariția unor tipuri ecologice strict delimitate, cu toate că adesea devieri mici de pH sau de temperatură pot influența activitatea vitală a unor microorganisme. Modificări mai importante ale mediului fizic, o creștere accentuată a presiunii osmotice, temperaturi înalte sau joase, condiții extreme de aciditate sau alcalinitate, duc în schimb la formarea unor tipuri ecologice foarte bine delimitate și la apariția unor proprietăți asemănătoare la organisme foarte diferite.

Microorganismele, datorită capacității lor pronunțate de adaptare și metabolismului lor foarte activ, prezintă un grad deosebit de mare de specializare în funcție de condiții extreme ale mediului.

Astfel, la microorganismele marine găsim adaptări la presiunile de sute de atmosfere, care există la fundul oceanului. *B. submarinus* și *B thalassokoides* de exemplu se dezvoltă bine la o presiune de 600 de atmosfere și mai mult, o presiune la care microorganismele terestre nu mai cresc, în schimb microorganismele „barofile“ se dezvoltă greu la presiunea de 1—2 atmosfere.

Presiunea osmotică din interiorul celulei bacteriene este în medie de 4—7 atmosfere. Bacteriile din solurile umede au o presiune osmotică intracelulară joasă (în jurul a 4 atmosfere), pe cînd presiunea osmotică intracelulară a bacteriilor din regiunile uscate este de 15—17 atmosfere. Un grup deosebit de interesant în această privință îl formează bacteriile halofile, din care unele nu se pot dezvolta decît în prezența unor concentrații mari de sare. Adaptări analoge se întîlnesc și la drojdii, din care unele se pot dezvolta în medii cu peste 80% zahăr (adaptări la concentrații mari de zaharuri s-au obținut și în mod artificial). În ultimul timp, L. I. Komarova (91) a făcut un număr mare de experiențe, cu scopul de a adapta unele culturi de drojdie la fermentarea unor concentrații mari de melasă, reușind să obțină tulpini cu proprietăți utile pentru industria fermentațiilor.

Este de remarcat faptul că adaptarea diferitelor specii de microorganisme la variațiile presiunii osmotice se realizează relativ ușor, probabil mai ales prin modificări de permeabilitate

şi ale conţinutului celular, în substanţe cu greutate moleculară mică.

O problemă foarte importantă, atît din punct de vedere teoretic, cît şi practic, este comportarea microorganismelor în funcţie de temperatură.

Factorul temperatură are o influenţă deosebit de mare asupra dezvoltării microorganismelor. Viteza tuturor reacţiilor din organism depinde într-o mare măsură şi de factorul temperatură. După regula lui Van't Hoff, viteza reacţiilor monomoleculare creşte în medie de 2—3 ori la variaţia temperaturii cu 10°. Acest fapt se exprimă prin formula $vt + 10 = Vt. Q_{10}$ unde $Q_{10} = 2—3$. Acest coeficient reprezintă în cazul proceselor biologice numai o valoare aproximativă, deoarece creşterea vitezei activităţii unor procese biologice odată cu temperatura variază mult în funcţie de valoarea absolută a temperaturii (Q_{10} a vitezei de creştere la *E. coli* este de 3,6 la 12,5 — 22,5° şi 22 la temperatura de 22,5 — 32,5°) ca şi în funcţie de alţi factori. Totuşi, în general coeficientul Q_{10} este aplicabil la multe reacţii din organismul viu. Datorită creşterii activităţii diferitelor procese biologice paralel cu creşterea temperaturii, efectele finale ale unor astfel de procese, exprimate în intensitatea respiraţiei sau viteza de creştere a unei culturi, vor creşte de asemenea odată cu temperatura. Astfel, celulele de *E. coli* se divid la 12,5° odată la 200 de minute, pe cînd la 37,5° diviziunile se produc la intervale de cîte 18 minute. Date analoge au fost găsite şi cu privire la reacţiile fermentative, consumul de oxigen etc. Coagularea laptelui de către streptococul lactic are loc la 30° în 4 ore şi 20 de minute, numărul de celule pe cm^3 ajungînd la 1 miliard, pe cînd la temperaturi mai înalte timpul de coagulare poate ajunge la 1 oră şi 40 de minute, numărul de celule pe cm^3 fiind numai de 50 milioane

În majoritatea cazurilor, atît reacţile fermentative izolate, cît şi întreaga activitate vitală a celulei se încetinesc brusc la temperaturi variind între 38 şi 45°, la care încep să predomine procese de denaturare a proteinelor celulare.

Pentru creşterea la temperaturi mai mari de 45—50° este deci nevoie fie de o stare specială a proteinelor protoplasmatice, fie de prezenţa în celulă a unor componente care să apere proteinele de denaturări. În afară de adaptarea organismului în sensul unei rezistenţe mai mari la temperaturi înalte, mai sînt necesare în acest caz şi adaptări la modificările solubilităţii

Scanned with OKEN Scanner

oxigenului și a bioxidului de carbon, a presiunii osmotice etc., modificări care au loc odată cu creșterea temperaturii. Adaptarea la temperaturi înalte este deci o adaptare complexă la diferiți factori din mediu. La fel de complexe sînt și adaptările la temperaturi joase, improprii desfășurării normale a proceselor biologice. Din această cauză, adaptarea la temperaturi joase și mai ales adaptarea la temperaturi înalte au dus la apariția unor tipuri ecologice foarte bine diferențiate.

În funcție de temperatura lor minimă, optimă și maximă, microorganismele se împart în : psihrofile, mezofile și termofile.

Tabloul nr. 5

Clasificarea microorganismelor în funcție de temperatura lor de creștere

Microorganisme	Temperatura grade		
	Minimă	Optimă	Maximă
Psihrofile	-5— 0	10—20	25—30
Mezofile	10—25	20—40	40—45
Termofile	25—45	50—60	70—80

Limitele de temperatură ale diferitelor specii pot avea o lărgime diferită, coeficientul de temperatură și temperatura de coagulare a proteinelor nefiind singurii factori care determină comportarea microorganismelor în funcție de temperatură. Astfel la *B. subtilis*, intervalul între temperatura optimă și cea maximă este de 52° (5—57°), iar la B. tuberculos uman sau la *Diplococcus gonorheae* el este de 10 — 12° (29 — 41°).

Microorganisme psihrofile. Condițiile de mediu din mările nordice, o temperatură joasă a solului în aproape tot timpul anului și alți factori analogi au dus la apariția grupului ecologic de microorganisme „psihrofile“ sau „criofile“, adaptate la temperaturi joase. Aceste microorganisme realizează la temperaturi de 0° și chiar sub 0°, cu o viteză uneori apreciabilă, procese fiziologice pe care microorganismele mezofile le pot realiza cu aceeași viteză numai la temperaturi de 15—20° sau și mai înalte. În schimb, multe din ele nu se pot dezvolta la temperaturi de peste 25—30°. Cercetările lui Rubencik (172),

Horowitz-Wlasova (65), Zo Bell ș. a. au scos în evidență un număr destul de mare de microorganisme adaptate la temperaturi joase. Ferrobacteriile *Gallinella ferruginea* se dezvoltă bine la 0°, iar *Leptothrix orchacea* crește în regiunea Kiev la temperaturi de 1—2°. Unele tulpini de lactobacili, *B. fluorescens* și unele ciuperci se dezvoltă la temperaturi între + 4 și —6,7°, temperatură la care mobilitatea acestor bacterii se mai păstrează încă. La temperaturi sub 0° s-au observat peptizarea laptelui, fermentarea ureei, lichefierea gelatinei etc. După Hess, bacteriile psihrofile realizează la —3° aproape toate procesele biochimice caracteristice pentru mezofile. Acest fapt are o importanță deosebită pentru păstrarea alimentelor și a unor materii prime la temperaturi joase, la care bacteriile psihrofile pot aduce uneori pagube importante. Problema deosebit de importantă a proprietăților fermenților microorganismelor care trăiesc la temperaturi joase, a comportării acestor bacterii față de celelalte proprietăți ale mediului lor fizic și chimic, care se modifică odată cu scăderea temperaturii, problema temperaturii de coagulare a proteinelor lor etc. au fost încă foarte puțin studiate.

Microorganisme mezofile. Cu toată comportarea foarte diferită a mezofilelor în funcție de temperatură (saprofiții avînd un optim mai scăzut decît speciile parazite și speciile din sud un optim de creștere mai înalt decît cele din regiunile nordice, speciile parazite prezintă deosebiri în privința optimului de temperatură în funcție de gazda pe care o parazitează), la majoritatea mezofilelor, factorul determinant în crearea unor tipuri ecologice cu proprietăți comune la microorganisme foarte diferite, pare să nu fie factorul temperatură. Totuși, nici la mezofile factorul temperatură nu poate fi neglijat în analiza interrelațiilor acestor bacterii cu mediul ambiant. La diferitele specii patogene găsim astfel adaptări foarte specifice la temperatura corpului animalelor pe care le parazitează. B. tuberculos uman, de exemplu, este adaptat la 37—39°, pe cînd cel al poichilotermelor la 28—30°. Alegerea unor rase locale de drojdii de vin pentru fermentarea vinurilor se bazează în bună parte pe adaptarea drojdiilor la condițiile de temperatură locală.

Microorganisme termofile (43), (73), (145). Din cauza proprietăților cu totul caracteristice pe care le posedă și prin importanța lor practică, microorganismele termofile au interesat un număr mare de cercetători.

Scanned with OKEN Scanner

Rezistența deosebit de mare la temperaturi înalte a microorganismelor termofile a făcut ca ele să poată trăi în condiții în care viața altor organisme este imposibilă. Cu toate că bacterii termofile au fost găsite în soluri mai sărace, în intestinul animalelor cu sînge rece etc., ele apar mai ales acolo unde la temperaturi înalte există și condiții favorabile de nutriție. Microorganisme termofile s-au semnalat însă și în apele minerale cu temperaturi de 90°, în apa geizerilor și în alte medii la fel de neprielnice dezvoltării altor organisme. Bacteriile termofile cresc deosebit de bogat acolo unde au loc procese de fermentare care duc la o ridicare a temperaturii. Ele contribuie în aceste cazuri la menținerea cantității de căldură necesară dezvoltării lor, prin căldura pe care o pun în libertate în urma utilizării incomplete a puterii calorice a hranei. Din această cauză, bacterii termofile ca *B. calfactor* au un rol important în autoinflamarea fînului, altele contribuie la autoinflamarea turbei, a cărbunelui etc. Prin transformările intense pe care le provoacă, microorganismele termofile sînt un factor important în autopurificarea biotermică a gunoaielor, fermentarea bălegarului, a tutunului etc.

Microorganismele termofile nu reprezintă un grup de microorganisme cu totul izolat, existînd diferite forme de trecere spre microorganismele mezofile. În funcție de gradul lor de adaptare la temperaturi înalte, A. A. Imșenețki (73) împarte bacteriile care trăiesc la temperaturi înalte în felul următor (tabloul nr. 6).

Tabloul nr. 6

Clasificarea microorganismelor termofile

Microorganisme	Temperatura grade		
	Minimă	Optimă	Maximă
Termotolerante . .	5—10	35—45	60—70
Euriterme	28—30	50—65	70—75
Stenoterme	35—40.	50—65	75—80

Cele mai multe bacterii considerate termofile sînt de fapt termotolerante, ele dezvoltîndu-se la fel de bogat la 25—30° ca la 60°; aceste bacterii reprezintă forme de trecere spre

bacteriile termofile adevărate (euriterme şi stenoterme) al căror optim de creştere este la temperaturi înalte.

La bacteriile euriterme se observă deosebiri mari în viteza de creştere la diferite temperaturi. Astfel, la unele din ele intervalul de timp dintre două diviziuni la 20° este de 370 de minute, pe cînd la 50—60° el este de 5—15 minute.

Bacteriile stenotermofile sînt relativ rare. Astfel Gordon a găsit că din 216 culturi de bacterii termofile, numai două, *B. coagulans* şi *B. stearothermophilus*, nu au crescut la 28°. De multe ori creşterea foarte înceată la temperaturi joase este considerată ca o lipsă a creşterii. Totuşi, cazurile de oprire a creşterii în decurs de mai mulţi ani la temperaturi mai joase şi reînceperea bruscă la temperaturi de 50—60° indică existenţa unor bacterii stenotermofile adevărate. Comportarea faţă de temperatură depinde însă şi de ceilalţi factori din mediu. După cum au arătat Koch şi Hoffmann, o bacterie termofilă izolată din sol nu a putut fi cultivată pe medii nutritive artificiale la temperaturi sub 40° şi a crescut în condiţiile solului la 20°.

Proprietatea care se remarcă în primul rînd la microorganismele termofile este intensitatea deosebit de mare a activităţii lor vitale. Acest lucru se manifestă mai ales prin viteza lor mare de creştere. Bacteriile termofile crescute pe medii solide au tendinţa de a forma în scurt timp colonii gigante. Chiar la actinomicete (care se dezvoltă de obicei mai încet decît bacteriile), pot apare în 24 de ore colonii cu diametrul de peste 10 mm *(Actinomyces diastazicus)*.

Curba de creştere a bacteriilor termofile diferă de cea a bacteriilor mezofile. La mezofile se deosebeşte o fază de lag, în cursul căreia au loc modificări fiziologice importante, fără ca numărul celulelor să crească, o fază de creştere logaritmică, în cursul căreia are loc o înmulţire rapidă a celulelor, o fază staţionară, în cursul căreia numărul de celule care mor este aproximativ egal cu cel al celulelor noi apărute prin diviziune, şi faza de declin, unde numărul de celule care mor este mai mare decît al celulelor noi. Aceste faze de creştere au mai fost subîmpărţite, durata lor fiind în funcţie de specia bacteriană, temperatură, vîrsta inoculului etc. [1]).

---

[1]) În unele condiţii se poate ajunge la oprirea creşterii în faza staţionară, în urma reînnoirii continue a mediului (metoda microgeneratorului Utenkov).

La bacteriile termofile faza de lag poate lipsi complet. În cazul cînd se însămînțează un inocul tînăr, începe imediat înmulțirea intensă a celulelor și în scurt timp se poate ajunge la faza staționară. În culturi aerate ale unor bacterii termofile amilolitice, populația bacteriană poate ajunge în 4—5 ore la numărul maxim de celule. Spre deosebire de mezofili, la care faza staționară poate dura pînă la 8 ore și mai mult, faza staționară lipsește aproape complet la bacteriile termofile. După ce se ajunge la un număr maxim de celule, începe imediat o descreștere rapidă a numărului acestora.

O caracteristică a culturilor de termofile este și numărul mare de celule ce mor în unitatea de timp. Moartea rapidă a celulelor în faza logaritmică deosebește în mod net tipul de creștere al culturilor de bacterii termofile, față de cel al bacteriilor mezofile.

Scăderea bruscă a numărului de celule în faza de declin se datorește autolizei intense a celulelor moarte. Din cauza proceselor de autoliză, culturile de 36—72 de ore de bacterii termofile sînt practic soluții de componente celulare și enzime, aproape lipsite de celule.

Moartea rapidă a celulelor la temperatura optimă de creștere a termofilelor l-a determinat pe Imșeneț ki (73) să considere această temperatură ca defavorabilă, cu toată creșterea maximă a culturii. El consideră această formă a curbei de creștere ca un fenomen patologic, arătînd că la temperaturile mai joase, la care moartea celulelor este mai puțin intensă, bacteriile ar prezenta un al doilea optim de creștere, cel „armonic". Deosebirea dintre optimul de creștere propriu-zis și cel „armonic" arată că adaptarea la temperaturi înalte este un proces care s-a realizat greu, la care nu toate funcțiunile organismului microbian s-au putut adapta în aceeași măsură.

În ceea ce privește procesele biochimice produse de microorganismele termofile, ele nu se deosebesc în esența lor de cele realizate de către organismele mezofile. Nici enzimele bacteriilor termofile nu se deosebesc în mod esențial de cele ale bacteriilor mezofile, avînd același optim de pH și mod de acțiune. Ceea ce deosebește însă în mod net procesele microorganismelor termofile de cele ale mezofilelor este viteza lor. Activitatea enzimatică a culturilor de bacterii termofile este în medie de 8—10 ori mai intensă decît cea a bacteriilor mezofile.

Scanned with OKEN Scanner

Activitatea enzimatică pronunţată a bacteriilor termofile poate avea, după părerea lui Imşeneţki şi a altor autori, o largă aplicare practică în hidroliza industrială a amidonului, a proteinelor, a celulozei, a substanţelor pectice etc.

Particularităţile mediului bacteriilor termofile au drept consecinţă şi alte modificări importante, în comportarea acestora. La temperatura de 60° solubilitatea oxigenului este de 0,00227 g (în loc de 0,00433, cît este la 20°) de asemenea, scade mult şi solubilitatea azotului, a hidrogenului şi a bioxidului de carbon. Vîscozitatea substanţelor se modifică şi creşte presiunea osmotică a substanţelor dizolvate în mediu etc., ceea ce duce şi la adaptări, la modificarea acestor factori din mediu.

La microorganismele termofile s-au descris relativ puţine forme anaerobe, cu toate că presiunea parţială a oxigenului din mediul termofilelor este mică (după unii autori sistemele enzimatice ale respiraţiei anaerobe sînt mai sensibile la temperaturi înalte decît cele ale respiraţiei aerobe). Sistemul respirator al termofilelor are însă o afinitate mare faţă de oxigen, de aceea o aerare mărită a mediului de cultură poate duce la o intensificare accentuată a creşterii. La bacteria termofilă amilolitică *B. diastazicus* s-au găsit în cazul unei aerări intense 330 068 de celule pe cm^3, în loc de 12 357 cîte erau la cultura martor, iar la *Bacillus* sp. (nr. 1) s-au găsit 1 359 300, în loc de 14 268 de celule pe cm^3.

La microorganismele termotolerante s-au observat în funcţie de temperatură şi modificări morfologice destul de importante (celulele devin mai subţiri, apar granulaţii etc.).

Cu privire la factorii care determină rezistenţa bacteriilor termofile la temperaturile înalte, s-au emis o serie de ipoteze.

După unii autori, bacteriile termofile nu ar fi de fapt mai rezistente la temperaturi înalte ca mezofilele, ele murind la fel de repede la temperaturi înalte ca şi acestea, însă procesele de creştere mai rapidă ar compensa mai uşor distrugerea celulelor la bacteriile termofile. Existenţa la termofile a unor fermenţi rezistenţi la temperatură înaltă arată însă că această ipoteză poate fi cel mult parţial valabilă.

După alţi autori, rezistenţa termofilelor s-ar datora fie proporţiei mai mici de apă liberă faţă de cea legată, fie dimensiunilor mai mari ale moleculelor proteinelor lor, fie faptului că permeabilitatea celulelor de termofile ar fi mai mică decît cea a mezofilelor.

Cercetările lui Gaugham, care pleacă de la ipoteza că lipidele organismelor adaptate la temperaturi înalte au un punct de fuziune mai înalt, au arătat că punctul de fuziune al

lipidelor. *B. mezentericus* crește paralel cu temperatura mediului. La un stenotermofil, diferitele temperaturi ale mediului nu au avut nici o influență asupra punctului de fuziune al lipidelor, ceea ce ar explica lipsa creșterii acestora la temperaturi mai joase.

În legătură cu posibilitatea unor organisme vii de a rezista la temperaturi înalte, o atenție deosebită merită și cercetările efectuate în legătură cu denaturarea proteinelor de diferite origini (10), cercetări care au arătat că în unele condiții proteinele pot rezista pînă la 120° fără să coaguleze și fără să piardă în mod apreciabil din activitatea lor enzimatică.

Este sigur că rezistența la temperaturi înalte, ca și capacitatea de a se dezvolta la temperaturi înalte, nu se pot atribui unui factor izolat, ci unui întreg complex de factori care caracterizează tipul de metabolism al termofilelor.

Cu privire la originea termofilelor s-au emis diferite ipoteze. Teoria mutațiilor (Lieske), după care proprietățile termofilelor au apărut în mod întîmplător la mezofili, nu a putut fi susținută cu fapte experimentale (experiențele lui Kluyver și Baars, care ar pleda în favoarea ei, nu au putut fi reproduse de alți cercetători). Teoria lui Arrhenius (care pleacă de la concepția idealistă a veșniciei vieții), cu privire la originea termofilelor din alte planete, nu poate fi nici ea considerată ca o explicație a originii termofilelor. Teoria geologică, după care termofilele ar fi reprezentanți ai unor specii care au trăit în erele cînd pămîntul era mai cald, este și ea puțin plauzibilă, majoritatea microorganismelor termofile nefiind forme primitive, afară poate de unele excepții, ca alga *Mastiglocadus laminosus*.

Teoria care dispune de cele mai multe argumente în favoarea sa este cea care afirmă originea adaptativă a termofilelor.

Existența unor specii apropiate de microorganismele mezofile și termofile, ca și rezultatele experimentale de obținere a unor tulpini cu o temperatură maximă de creștere mărită, indică natura adaptivă a apariției termofilelor.

Începînd cu experiențele lui Dallinger, care a reușit să ridice treptat temperatura maximă de creștere a unor flagelate cu 23°, majoritatea cercetătorilor care au lucrat în acest domeniu au arătat că adaptarea la temperaturi înalte se obține gradat, în funcție de temperatura mediului, neobținîndu-se la

temperaturi joase salturi spontane care să permită creșterea la temperaturi înalte.

După cum au arătat Imșenețki și alți cercetători, experiențele de adaptare nici nu pot fi începute în majoritatea cazurilor la temperatura maximă de creștere a speciilor respective, temperatură la care celulele de obicei degenerează, ci ele trebuie începute la temperaturi ceva mai joase, mai favorabile activității vitale a microorganismelor respective și care îi permit elaborarea adaptativă a unor mecanisme fiziologice noi, apărute odată cu creșterea temperaturii mediului.

Datorită faptului că temperatura de coagulare a proteinelor este probabil o proprietate care se schimbă deosebit de greu, toți cercetătorii care au încercat să obțină tulpini cu temperatura maximă de creștere mai ridicată, au întîmpinat greutăți foarte mari și nici pînă astăzi nu s-a obținut experimental o bacterie stenotermofilă adevărată, ci numai bacterii cu un grad mai mare sau mai mic de termotoleranță.

Între încercările făcute în acest sens amintim pe cele ale lui A. Dieudonné (24) care a putut să ridice temperatura de creștere la B. cărbunos, *B. fluorescens* și *B. prodigiosum* cu 4-5° și Tikinskaia, care a reușit să ridice temperatura maximă de creștere a *B. subtilis* cu 8°. Date analoge s-au obținut la *E. coli* și *B. mycoides*. Krohn a reușit să ridice temperatura maximă de creștere la *B. termophilus negre* de la 50° la 62,5°.

Deosebit de interesante sînt datele cu privire la compararea proprietăților microorganismelor adaptate la temperaturi înalte, cu cele ale tulpinilor de origine.

A. A. Imșenețki, studiind o tulpină de *B. megatherium*, care a putut fi adaptată la temperatura de 55°, a constatat că activitatea ei proteolitică era de 6—7 ori mai mare decît a tulpinii de origine. Ținînd seama de faptul că numărul de celule pe cm^3 scade în culturile tulpinii adaptate la temperaturi mai înalte, deosebirea de activitate devine și mai mare.

Date analoge au fost obținute de Longhinova (123) (124), la drojdii la care s-a obținut după 18 luni de cultivare (*S. cerevisiae* rasa XII), variante care cresc la 40°. Ulterior, temperatura maximă de creștere s-a ridicat la 44°.

Drojdiile adaptate la 40° posedă o maltază mai activă la 40° decît cele crescute în prealabil la 30°, formarea de alcool este aproape egală ca la 30°, însă datorită numărului mai mic

de celule pe cm³, activitatea raportată la celulă devine de două ori și jumătate mai mare. Celulele adaptate la 40 °, cultivate apoi la 30°, fermentează de două ori mai repede decît tulpina de origine, deci proprietatea de a metaboliza mai activ, cîștigată prin adaptarea la temperaturi mai înalte, se păstrează și în cursul creșterii la temperaturi mai joase.

La fel ca la bacteriile termofile, aerarea culturilor de drojdie adaptate la temperaturi înalte duce la o activare importantă a creșterii lor.

Studiul culturilor de bacterii și ciuperci, cu o temperatură maximă de creștere mai înaltă, obținute experimental, arată că ele capătă unele proprietăți caracteristice bacteriilor termofile (activitate biochimică mărită, o densitate mai mică a culturii pe cm³ și activarea creșterii prin aerare etc.). Dobîndirea acestor caractere constituie de asemenea o dovadă importantă a originii adaptative a termofilelor.

La fel de anevoioasă ca adaptarea la temperaturi înalte, este și obținerea scăderii temperaturii maxime de creștere.

Dintre diferitele exemple în această privință citățm observațiile făcute asupra ciupercii *Saccharomyces thermantitonum*. Imediat după izolare optimul de creștere era între 39 și 45°; după 14 ani se observă o creștere slabă la 40° și după alți 12 ani nu mai crește de loc la 40°, apropiindu-se de *S. cerevisiae;* totuși prezintă o rezistență mai mare decît acesta la temperaturi de 40 și 45°.

Date analoge au fost observate de E. N. Mișustin (146) la diferite tulpini de *B. mycoides* izolate din regiunile sudice ale Uniunii Sovietice. Culturi izolate în 1939 aveau la acea dată o temperatură optimă de creștere la 38° și maximă la 44°. După 5 ani de păstrare la temperatura camerei, temperatura lor maximă a scăzut la 40° și după alți 4 ani, 4 din 6 tulpini aveau o temperatură maximă de creștere de 38°, ceea ce le apropia de rasele de *B. mycoides* din regiunile nordice.

În concluzie, putem afirma că modificările profunde care apar odată cu adaptarea la temperaturi înalte au creat un nou tip ecologic foarte caracteristic.

Microorganisme care fac parte din cele mai diferite clase (bacterii, actinomicete, drojdii, alge etc.), au căpătat sub influența temperaturilor înalte, proprietăți asemănătoare și cu totul diferite de proprietățile altor microorganisme.

Prin proprietățile lor comune, termofilele constituie unul din cele mai frumoase exemple pentru modificarea adîncă a tipului de metabolism, sub influența mediului ambiant.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL IV

INTERRELAŢIILE DINTRE MICROORGANISME ŞI MEDIUL LOR BIOLOGIC

Deosebirea esenţială între interrelaţiile organismelor vii şi relaţiile acestora cu mediul fizic şi chimic constă în faptul că în primul tip de interrelaţii, toţi partenerii se adaptează în mod activ la condiţiile de viaţă modificate de celelalte organisme, pe cînd în al doilea caz, are loc numai modificarea adaptativă a organismului viu. De aceea nu se va putea vorbi niciodată de modificările unui membru al unei biocenoze, fără a se ţine seama de modificările active ale celorlalţi parteneri, modificări care vor influenţa la rîndul lor organismul care le-a provocat iniţial.

Pentru a ilustra cele menţionate redăm cîteva date cu privire la evoluţia unor sisteme de apărare ale vertebratelor superioare împotriva microorganismelor patogene şi a modificărilor paralele suferite de microorganismele respective.

Animalele cu sînge cald, şi mai ales mamiferele, se caracterizează printr-o reactivitate înaltă faţă de produsele activităţii vitale a bacteriilor şi printr-o temperatură a corpului lor, care permite o dezvoltare rapidă şi procese metabolice intense la microorganismele adaptate la această temperatură. Din această cauză există un număr mare de microorganisme, patogene pentru vertebratele superioare şi nepatogene pentru cele inferioare sau nevertebrate, şi invers.

Creşterea reactivităţii, datorită mai ales dezvoltării sistemului nervos central, a avut însă drept consecinţă şi elaborarea unor sisteme de apărare speciale, ca formarea anticorpilor specifici îndreptaţi în mod exclusiv împotriva agentului patogen pătruns în organism, creşterea reactivităţii locale etc. — sisteme puţin dezvoltate şi de o specificitate scăzută la poichiloterme şi nevertebrate. Această a dus şi la apariţia unor fenomene de hiperreactivitate, ca acele de alergie şi anafilaxie, care influenţează într-o bună măsură evoluţia unor boli infecţioase, cum sînt tuberculoza, bruceloza, scarlatina etc. (214). Posibilităţile noi de apărare nu sînt separate de cele filogenetic mai vechi, ci sînt strîns legate de ele.

Aceste interrelaţii între macro- şi microorganism sînt relaţii dinamice, aflîndu-se într-o evoluţie continuă. Prin adaptarea animalelor la diferite condiţii de viaţă se întîmplă uneori, în mod indirect, ca organismul lor să poată fi atacat de noi specii bacteriene, faţă de care înainte era imun, iar procesul infecţios la rîndul său poate duce la elaborarea unor fenomene de adaptare şi selecţie a macroorganismului, care obligă microorganismele să se adapteze la noile condiţii de viaţă.

Ca o ilustrare a celor afirmate, amintim experienţele lui C. Webster (209), care a obţinut prin infectarea, timp de mai multe generaţii, a unor şoareci cu *Salmonella enteritis* şi virusul encefalitei *St. Louis*, linii care rezistă în

proporţie de 85-93% faţă de virus şi 81-82% faţă de bacterie. Şoarecii inoculaţi separat fie cu virus, fie cu bacterie, rezistă în mod specific la fiecare din ei, cei inoculaţi cu amestec de virus şi bacterie rezistînd şi la amestecul lor. Aceste caractere dobîndite se păstrează ereditar în cursul încrucişărilor. P. P. Zaharov (212) a putut arăta prin imunizări cu vaccin viu transmiterea ereditară a imunităţii dobîndite, în condiţii experimentale în care simpla selecţie a indivizilor cu imunitate naturală mai înaltă era exclusă. Modificările reactivităţii gazdei obligă la rîndul lor microorganismele la noi adaptări ş. a.m.d.

O interdependenţă la fel de strînsă se observă şi în cazul interrelaţiilor dintre microorganisme şi plante şi între diferitele specii de microorganisme.

Problemele ridicate de existenţa şi evoluţia continuă a interrelaţiilor dintre microorganisme şi organismele pluricelulare, precum şi a celor dintre microorganisme, sînt deosebit de complexe şi strîns legate de cele mai diferite domenii ale practicii.

Imunologia, epidemiologia, fitopatologia, studiul antibioticelor, al microbiologiei solului şi alte domenii ale biologiei teoretice şi aplicate, sînt strîns legate de studiul relaţiilor dintre microorganisme şi alte organisme.

În fiecare din aceste domenii, găsim multe exemple care arată legăturile strînse dintre microorganisme şi mediul lor biologic. Noi ne vom rezuma în cele ce urmează numai la analiza unor probleme mai importante şi la redarea unor exemple tipice pentru aceste relaţii.

Dintre multiplele aspecte ale problemei interrelaţiilor dintre microorganisme şi organismele pluricelulare, vom trata aici numai cîteva, legate de interrelaţiile dintre microorganismele patogene şi organismele animale şi de rolul microorganismelor în nutriţia animalelor şi a plantelor.

1. Interrelaţii între microorganisme patogene şi animale

Procesele infecţioase sînt determinate atît de proprietăţile microorganismului, cît şi de cele ale macroorganismului. Starea de reactivitate a macroorganismului, vîrsta, condiţiile climaterice în care trăieşte, nutriţia sa etc. pot fi deseori factorul determinant în evoluţia unei infecţii. Faptul că numai 50% din copiii infectaţi cu scarlatină fac forma tipică de boală sau că numai 1% dintre copiii infectaţi prezintă fenomene aparente de poliomielită, poate fi explicat numai prin reactivittatea diferită a organismului uman faţă de agentul patogen.

Scanned with OKEN Scanner

Apariţia procesului tuberculos şi a altor maladii depinde de asemenea în mare parte de reactivitatea macroorganismului. Putem spune astăzi cu destulă siguranţă, că nu există nici o singură latură a procesului infecţios unde să putem vorbi numai de acţiunea microorganismului, fără a ţine seama de reacţia macroorganismului, care este factorul determinant în formarea condiţiilor de mediu pentru microorganism în cursul procesului infecţios (215).

Legătura dintre bacteriile patogene şi macroorganism trebuie privită ca un echilibru dinamic, în cadrul căruia relaţiile de simbioză sau de parazitism sînt determinate atît de proprietăţile microorganismului cît şi de cele ale organismului pluricelular, putînd să existe toate formele de trecere între simbioză-comensualism şi parazitism (40).

Noi ne vom rezuma însă aici numai la analiza cîtorva proprietăţi ale microorganismelor legate de caracterul lor de patogenitate, analiza interrelaţiilor microorganism patogen-macroorganism în toată complexitatea lor, depăşind cu mult cadrul acestei lucrări.

În linii generale, microorganismele patogene se caracterizează printr-un complex de proprietăţi, care cuprinde deseori capacitatea de a pătrunde în interiorul macroorganismului trecînd prin barierele sale naturale, de a se adapta şi multiplica în interiorul său, de a-i slăbi posibilităţile de apărare prin elaborarea de toxine, precum şi posibilitatea de a utiliza în mod specific ţesuturile gazdei ca sursă de nutriţie.

Să urmărim problema rolului fiecăruia dintre aceste proprietăţi în interrelaţiile dintre microorganism şi gazdă [1]).

Organismul animal este un substrat nutritiv foarte bogat, totuşi, în afară de tractul gastro-intestinal şi de căile respiratorii superioare, el este de obicei steril. Acest fapt se datoreşte unor mecanisme speciale de apărare ale organismului

---

[1]) « Rolul » proprietăţilor care determină patogenitatea microorganismelor nu trebuie privit însă în sens teleologic, ci « scopul » acestor proprietăţi trebuie văzut ca rezultatul unui proces îndelungat de adaptare şi selecţie, care a dus la apariţia unui complex de proprietăţi care îi asigură microorganismului condiţiile de viaţă optime în interiorul organismului animal. De aceea « rolul » proprietăţilor microbilor patogeni nu poate fi privit în mod absolut, ci numai în funcţie de mediul lor natural, starea fiziologică şi filogenia lor. Acelaşi lucru este valabil şi pentru « rolul » mecanismelor de apărare ale macroorganismului.

Scanned with OKEN Scanner

animal viu. De îndată ce prin moartea animalului, aceste mecanisme încetează să acționeze, el este invadat de flora saprofită din cavitățile sale. Fenomene analoge se petrec și în cursul unor procese locale de necroză sau în urma slăbirii excesive a capacităților de apărare ale organismului (menținerea unor cobai la o temperatură defavorabilă (37°) sau surmenarea lor excesivă duce la moartea animalelor în urma activării florei intestinale).

Dintre mecanismele care apără organismul animal de invazia florei saprofite din mediu, amintim în primul rînd activitatea bactericidă a pielii și a mucoaselor (ale cărei cauze au putut fi stabilite în prezent numai parțial). Bacteriile saprofite care se găsesc de obicei pe suprafața pielii, cum ar fi stafilococii sau streptococii, rezistă însă la activitatea bacteriostatică a pielii. S-a observat de asemenea și o activitate antibacteriană destul de pronunțată a laptelui, urinei și a salivei. În mucoasa nazală s-a găsit o substanță care neutralizează virusul gripal, virusul herpesului și virusul poliomielitei, precum și substanțe cu acțiune antibacteriană.

Dintre substanțele cu acțiune antibacteriană de pe suprafața corpului, cel mai bine a fost studiat lizozimul, o substanță cu activitate enzimatică și cu o greutate moleculară relativ mică, care se găsește în diferite țesuturi și mai ales în lacrimi, unde are un rol important de apărare a ochiului, față de diferite infecții bacteriene [1]).

Diversele sisteme de apărare a suprafeței organismului animal reduc de la început numărul de bacterii care pătrund în organism.

Una din caracteristicele microorganismelor patogene este capacitatea lor de a pătrunde prin barierele naturale ale organismului animal, fără să poată pătrunde însă la fel de ușor pe toată suprafața acestuia. Numărul de specii microbiene care pot pătrunde prin pielea intactă este foarte redus (*B. tularemis*, unele leptospire și cîteva alte specii microbiene) pentru pătrunderea multor altor specii de microorganisme fiind nevoie de lezarea pielii (rănire, înțepătura insectelor etc.).

---

[1]) Lizozimul s-a găsit și în cavitatea bucală, unde are un rol antiinfecțios important, în diferite țesuturi, în sînge, în lichidul cefalorahidian etc. Lizozimul este activ mai ales față de microbii saprofiți; există însă și cîțiva paraziți ca gonococul, meningococul, streptococul hemolitic sau B. cărbunos, care sînt sensibili la lizozim. Lizozimul pare să aibă și un rol în regenerarea țesuturilor.

Scanned with OKEN Scanner

Majoritatea microbilor patogeni pătrund în organism fie pe cale gastro-intestinală (B. tific, B. dizenteric, V. holeric etc.), fie prin căile respiratorii B. tuberculos, pneumococ, *H. pertusis* etc.), celelalte căi de pătrundere fiindu-le de obicei închise. Pentru pătrunderea B. tuberculos pe cale gastrică, de exemplu, este nevoie de un număr mult mai mare de bacterii decît pe calea respiratorie.Unele bacterii patogene, cum ar fi B. tetanic sau bacilii care provoacă gangrena gazoasă, nu se pot dezvolta în toate cazurile, chiar dacă au pătruns în organism, ele cerînd pentru dezvoltarea lor o slăbire a posibilităților de apărare a organismului, prin procese de necroză locale, ca și un potențial de oxidoreducere scăzut. Problema deosebit de interesantă a factorilor care determină ca unele microorganisme să poată pătrunde prin tegumentele intacte ale organismului și altele nu, a fost pînă acum puțin studiată.

Necesitatea unei porți de intrare bine determinate nu este dată numai de existența unor organisme de apărare de pe suprafața organismului animal, dar și de soarta microorganismelor patogene, după pătrunderea lor în organism. Pentru producerea unei infecții generalizate cu stafilococ la un iepure, trebuie inoculați 4,5 cm^3 de cultură intraperitoneal, 0,7—1 cm^3 subcutan, 0,25 cm^3 interpleural, 0,05 cm^3 intravenos sau 0,0001 cm^3 în camera anterioară a ochiului.

Pe lîngă calea de pătrundere trebuie să existe și un vector natural al microorganismului (aer, apă, sol, insectă, contact direct cu bolnavul etc.), care să-l pună în contact cu organismul sensibil la poarta de intrare. Existența factorilor de apărare duce de la început la eliminarea unui număr mare de microorganisme care nu pot pătrunde în mod natural prin suprafețele, tegumentele organismului animal sau pentru care nu există un transmițător în condiții naturale de viață. Unele dintre aceste microorganisme introduse în mod artificial pot să producă însă procesul patologic. Inocularea la cobai a unui singur bacil tuberculos duce la moartea acestuia, la fel și inocularea streptococilor din grupul A la iepuri. Totuși nici tuberculoza nu este o boală naturală a cobaiului și nici infecția spontană cu streptococ A nu se întîlnește la iepure.

Vedem deci că, chiar în această primă etapă a pătrunderii microorganismului în organism, avem de fapt de-a face cu un proces complex, de care trebuie ținut seama cînd se analizează originea speciilor patogene de microorganisme. Este probabil

că deseori s-au putut adapta la parazitism față de anumite specii numai acele microorganisme care erau adaptate la transmițătorul natural al acestor infecții. Analiza acestor fenomene în sensul cum a fost făcută de J u k o v, de exemplu, a arătat că interrelațiile microorganism-transmițător-poartă de intrare, pot fi înțelese numai dacă sînt privite din punct de vedere istorico-evolutiv.

Microorganismul odată pătruns în organismul animal găsește acolo condiții defavorabile de viață, răspîndirea și înmulțirea sa fiind pe de o parte oprite de barierele tisulare ale organismului animal și pe de altă parte, el fiind supus mecanismelor de apărare ale acestuia.

Dintre proprietățile care asigură pătrunderea microorganismelor patogene în diferitele părți ale organismului animal, un rol important îi revine factorului de difuziune al lui Duran-Reynolds (28), al cărui component principal este hialuronidaza (8). Hialuronidaza este o enzimă care hidrolizează acidul hialuronic, un polizaharid care se găsește în lichidul sinovial, în spațiile intracelulare ale țesuturilor, în cordonul ombilical etc. Ea se întîlnește la mulți germeni invazivi (streptococ, stafilococ auriu, pneumococ, *Cl. welchii* etc.). Hialuronidaza se găsește și în capul spermatozoidului (ceea ce îi permite să pătrundă în ovul), în veninul de șarpe și albină, în secrețiile lipitorilor, în tumorile maligne etc. Hialuronidaza îndeplinește deci la multe organisme foarte deosebite, același rol, de a ușura învingerea barierelor de acid hialuronic. La bacterii, hialuronidaza se întîlnește și la unele specii nepatogene ; ea se găsește totuși mai ales la cele patogene. În ceea ce privește rolul hialuronidazei în conflictul bacterie-gazdă, părerea inițială, oarecum simplistă, a valorii absolute a hialuronidazei pentru bacteriile patogene a fost infirmată de o serie de cercetări.

Majoritatea streptococilor scarlatinoși sînt lipsiți de hialuronidază, mai mult, tulpinele de streptococi hemolitici din grupul A care posedă hialuronidază nu au capsula formată din acid hialuronic, fiind astfel lipsiți de un factor important în apărarea lor împotriva fagocitozei. De multe ori nici la *Cl. welchii* și stafilococ nu s-a găsit o legătură directă între virulență și prezența hialuronidazei la bacteriile mai puțin virulente ; prezența hialuronidazei favorizează diseminarea lor, ceea ce îi face mai ușor accesibili mecanismelor de apărare ale gazdei. Există totuși și o serie de date care arată importanța

hialuronidazei în procesul infecțios. Tulpinele de *Cl. welchii* din sol sînt în medie mai sărace în hialuronidază decît cele izolate din organism. La Stafilococul auriu și *Cl. welchii*, hialuronidaza se formează adaptativ în funcție de prezența acidului hialuronic, iar la o tulpină de stafilococ, care în urma acțiunii penicilinei a devenit saprofită, s-a constatat că s-a produs și pierderea concomitentă a capacității de a forma adaptativ hialuronidază. Gudkova și Stuter au putut stabili că stafilococii sau Listerellele care pătrund prin bariera hematoencefalică producînd abcese intracraniene sau meningite, au o hialuronidază deosebit de activă.

Rolul hialuronidazei în procesul infecțios a putut fi demonstrat și în mod direct, în cursul acestuia.

În organismul bolnavilor cu pneumonii grave s-au găsit cantități crescute de antihialuronidază, ca un răspuns al gazdei la elaborarea unei cantități mari de hialuronidază de către pneumococi. S. M. Bîcikov (9) a putut izola din diferite organe, în cursul unor infecții experimentale cu *Cl. welchii*, un produs de hidroliză a hialuronidazei, glucozamina.

Capacitatea unor bacterii de a forma edeme și de a hidroliza chiagurile de fibrină, ca și alte proprietăți analoge, facilitează de asemenea invadarea macroorganismului de către acestea. Din această cauză, rolul hialuronidazei nu poate fi privit în mod izolat, ea fiind numai unul din factorii care favorizează răspîndirea microorganismului în organismul animal.

Dintre factorii care contribuie la diseminarea bacteriilor patogene în organism, o importanță mare pare să aibă enzima proteolitică fibrinolizina, care se întîlnește însă și la multe specii nepatogene.

Fibrinolizina este importantă prin acțiunea sa de topire a chiagurilor de fibrină din vasele sanguine, chiaguri care contribuie la oprirea invadării macroorganismului de către microorganismul patogen. La multe microorganisme se observă existența concomitentă a hialurodinazei cu fibrinolizina. La unii streptococi se observă chiar un paralelism între activitatea hialuronidazică și cea fibrinolitică.

În cazul streptococului, fibrinolizina nu contribuie însă decît într-o mică măsură la procesul patologic propriu-zis, care se datorește mai ales unor componente de altă natură a toxinei streptococice. De altfel, chiar la invadarea macroorganismului de către streptococul hemolitic participă, în afară de hialu-

ronidază și fibrinolizină, și alți factori, cum ar fi streptodornaza, care este o desoxiribonuclează.

Studiul hialuronidazei, al fibrinolizinei și al altor factori care contribuie la diseminarea microorganismelor în organismul animal arată, pe de o parte, că organisme foarte diferite (cum ar fi de exemplu o albină și celula bacteriană) posedă mecanisme analoge, adaptate aceluiași scop, și pe de altă parte, că valoarea adaptativă „în sine" a unui factor al virulenței nu poate fi deseori pusă în evidență dacă el este studiat în mod separat, ci numai dacă se consideră totalitatea legăturilor care există între micro- și macroorganism.

Microorganismele pătrunse în organismul animal suferă acolo acțiunea diferitelor mecanisme de apărare ale acestuia. Multe țesuturi ale organismului animal conțin substanțe bacteriostatice. Din timus de exemplu, s-a putut izola o substanță care inhibă creșterea Stafilococului auriu, a *B. mesentericus*, a B. cărbunos și a streptococului hemolitic. L. Zilber și N. Iakobson (217) au putut izola din eritrocite o substanță cu proprietăți bacteriostatice pronunțate, care a fost experimentată cu succes în tratarea purtătorilor de bacili difterici. Ermoliova a izolat și ea din organismul animal o substanță deosebit de activă, ermolina, cu o acțiune importantă îndreptată împotriva diferitelor bacterii Gram-pozitive și Gram-negative, ca și a virusului gripal. Alte substanțe cu acțiune bacteriostatică au putut fi izolate din leucocite (leucine), plachete sanguine și diferite țesuturi și tumori ale organismului animal.

Între factorii de apărare ai organismului animal, un rol deosebit de important îl au factorii de apărare din sînge: complementul (alexina) și β-lizina și mai ales activitatea fagocitară a leucocitelor.

În organismul animal neimunizat, complementul (un grup de substanțe bactericide în majoritatea lor termolabile, a căror compoziție nu a putut fi încă stabilită cu precizie) și leucocitele sînt active mai ales împotriva microorganismelor nepatogene sau slab patogene.

Conform concepției inițiale a lui Mecinikov, fagocitarea bacteriilor reprezintă adaptarea la funcția de apărare a uneia dintre cele mai vechi funcțiuni celulare ale organismelor animale, cea de digestie intracelulară. Această funcțiune se păstrează și la organismele superioare, unde distrugerea hematiilor bătrîne în splină și ficat, și a altor celule moarte, se face prin fagocitare.

La animalele superioare, fagocitoza este de obicei însoţită de procese complexe (fixarea bacteriilor prin procese inflamatorii, schimbări ale permeabilităţii capilarelor şi mobilizarea diferitelor sisteme de apărare etc.) (186). Efectul reacţiei leucocitare depinde în bună măsură şi de gradul de imunitate dobîndită a organismului. Cercetări recente făcute în această privinţă arată că afluxul leucocitelor, şi chiar activitatea lor, depind de reactivitatea organismului văzută în totalitatea sa şi sînt determinate de activitatea sistemului nervos central.

Activitatea antibacteriană pronunţată a leucocitelor se explică prin capacitatea lor de a migra prin endoteliul capilarelor, prin chimiotactismul lor pozitiv faţă de secreţiile unui număr mare de bacterii (polizaharizi şi proteine), prin suprafaţa lor mare de absorbţie şi prin substanţele bactericide din interiorul lor, cuprinse sub denumirea generică de leucine. Leucocitele se caracterizează şi printr-un echipament enzimatic bogat, care asigură digestia rapidă a celulelor bacteriene.

Mecanismul propriu-zis al acţiunii bactericide a leucocitelor nu se cunoaşte încă, dar se pare că ar interveni enzime de tipul ribonucleazic (186). Acţiunea bactericidă a extraselor leucocitare este întovărăşită de o modificare profundă a morfologiei celulei bacteriene (141).

Vor putea supravieţui în organismul animal numai bacteriile patogene, care pot paraliza procesul de fagocitoză [1]) sau să reziste în interiorul leucocitelor, dacă au fost fagocitate, şi chiar să le distrugă.

Multe bacterii patogene inhibă activitatea leucocitelor. La stafilococi, streptococi şi pneumococi, s-au descris substanţe speciale, leucocidine, care au o activitate antileucocitară pronunţată.

O activitate antileucocitară puternică au şi multe substanţe cu proprietăţi antigenice care se găsesc la suprafaţa celulelor microbiene. Antigenul complet al Enterobacteriaceelor provoacă un chimiotactism negativ al leucocitelor. Dintre antigenele superficiale, o atenţie deosebită trebuie acordată antigenului Vi de pe suprafaţa bacilului tific, care condiţionează într-o bună măsură virulenţa acestuia. El are o activitate de apărare pronunţată împotriva leucocitelor, fără ca să fie mai toxic pentru animalele de experienţă decît celelalte antigene.

---

[1]) Există chiar o anumită relaţie între gravitatea infecţiei şi inhibiţia activităţii leucocitare. Tulpinele foarte virulente de B. cărbunos nu provoacă nici o reacţie inflamatorie locală, ci de la început se constată o septicemie gravă; în infecţii deosebit de grave, cum ar fi pesta bubonică, nu se observă nici o reacţie la locul de pătrundere a agentului patogen în organism. Dimpotrivă, dacă în mod artificial, de exemplu prin injecţii de bulion, se provoacă un aflux de leucocite într-un anumit loc, animalul poate rezista la inocularea ulterioară a unor doze mortale de stafilococi sau vibrioni holerici în acest loc.

Scanned with OKEN Scanner

Deosebirile de virulență a formelor „S“ (virulente) și „R“ (mai puțin virulente) ale Enterobacteriaceelor se datoresc în mare parte lipsei antigenului total la formele „R“ și deci și fagocitării lor mai ușoare. Un mecanism de apărare împotriva fagocitozei, răspîndit la multe microorganisme, este capsula care se formează în jurul corpului bacterian. Pneumococii sau B. cărbunos se găsesc în organismul bolnav numai încapsulați. Același rol îl au și capsulele streptococilor, ale *B. friedländer* etc.

Cercetările lui R. I. Dubos și colaboratori (25) au arătat că hidrolizarea capsulei pneumococilor de către o enzimă specifică față de tipul de pneumococ respectiv, apără animalul de infecția experimentală. Pneumococul nu suferă nici o acțiune nocivă sub influența enzimei, în afară de pierderea capsulei. El își poate reface capsula, dacă ulterior este cultivat în absența enzimei respective, redevenind virulent.

Este de remarcat faptul că polizaharidul care constituie capsula pneumococilor, diferă mult de la un tip la altul (pneumococul de tipul I conține acid galacturonic, cei de tipul III conțin acid celobiozic, la fel și cel de tipul VIII, unde glucoza se găsește însă sub altă formă etc.). Capsula streptococului este formată din acid hialuronic, iar cea a B. cărbunos este un polipeptid al acidului glutamic. Toate aceste substanțe cu proprietăți chimice și fizico-chimice diferite au un efect comun — inhibiția activității fagocitare.

Convergența în privința efectului antifagocitar a unor substanțe atît de diferite din punct de vedere chimic, localizate toate pe suprafața celulelor, ca antigenele totale ale bacteriilor Gram-negative, antigenul Vi al B. tific și substanța capsulară a diferitelor specii bacteriene, constituie un exemplu concludent de formare a unor tipuri ecologice asemănătoare, în funcție de condiții de viață analoge. Aceste tipuri ecologice se formează totuși conform evoluției filogenetice și tipului de metabolism ale speciilor bacteriene respective.

Acțiunea antifagocitară nu se rezumă totuși numai la activitatea substanțelor localizate pe suprafața celulelor. Exotoxina bacilului tetanic de exemplu, apără sporii de B. tetanic de fagocitoză, iar coagulaza, o enzimă secretată de Stafilococul auriu, are și ea, după cum s-a putut stabili experimental, un rol important în apărarea stafilococului împotriva fagocitozei,

Scanned with OKEN Scanner

prin formarea unui chiag de fibrină în jurul corpului bacterian.

Rezistența la fagocitoză a diferitelor specii de bacterii patogene nu se manifestă numai prin împiedicarea procesului de fagocitoză. Anumite bacterii patogene (gonococul și B. tuberculos, unii stafilococi, B. tific, *B. friedländer* ș. a.) rămîn viabile și în interiorul leucocitelor, unele din ele distrugînd chiar leucocitele. De existența bacteriilor patogene în interiorul leucocitelor trebuie să se țină seama și în cazul administrării unor preparate chimioterapeutice, leucocitele putînd să apere bacteria de acțiunea substanței medicamentoase.

Datorită acțiunii antifagocitare a majorității bacteriilor patogene, leucocitele acționează în organismul neimunizat, mai ales împotriva speciilor nepatogene. În organismul imunizat în mod specific, bacteriile încărcate cu anticorpi sînt ușor fagocitate, anticorpii în sine, fără acțiunea complementului și a leucocitelor, neavînd decît un efect redus asupra bacteriilor [1]). În urma procesului de imunizare se schimbă și proprietățile leucocitelor, astfel că bacteriile fagocitate nu mai pot rezista în interiorul acestora.

Experiențele făcute cu B. pestos au arătat că, în timp ce la indivizi neimunizați endotoxina B. pestos distruge leucocitele, la cei imunizați cu vaccin viu, leucocitele rezistă la acțiunea endotoxinei.

Vedem deci că în cursul interrelațiilor cu bacteriile parazite, se produc modificări evolutive ale macroorganismului, care îi permit să utilizeze funcțiuni de apărare filogenetic mai vechi (fagocitoza și acțiunea complementului) pentru desfășurarea unor mecanisme filogenetic mai noi (activitatea specifică a anticorpilor). Microorganismele la rîndul lor pot răspunde la formarea anticorpilor specifici prin trecerea în forma „R“ etc.

Rolul important al fagocitozei în reacțiile de imunitate, arătat pentru prima oară de Mecinikov, i-a determinat pe unii autori să facă o legătură strînsă între virulența microbilor și activitatea lor antifagocitară. Această concepție privește totuși numai un singur aspect al problemei, ea ignorînd mai ales problema specificității legăturii dintre parazit și gazdă.

---

[1]) Bacilii tifici aglutinați își păstrează de exemplu toate proprietățile fermentative și capacitatea respiratorie; ei pot fi însă mai ușor distruși de către complement și leucocite în urma blocării funcțiunilor antigenice cu acțiune antileucocitară.

Ca o exemplificare a faptului că activitatea antifagocitară nu determină în mod complet virulența specifică, pot servi unele experiențe de transformare a tipurilor de pneumococi.

Dacă forme „R", acapsulate, de pneumococi, sînt cultivate în prezența corpilor microbieni sau a acidului desoxiribonucleic provenit de la forme „S" ale unui alt tip de pneumococ, ele se transformă în forme „S" de celălalt tip, dobîndind capsula și polizaharidul specific tipului respectiv. Un pneumococ de tip III virulent numai pentru șoarece și avirulent pentru iepure, dobîndind prin acest procedeu polizaharidul capsular al unui tip de pneumococ virulent pentru ambele animale, rămîne mai departe virulent numai pentru șoarece.

În concluzie, putem spune că activitatea antifagocitară, la fel ca și capacitatea de invazie a unui microorganism patogen, poate fi apreciată la adevărata ei importanță biologică numai dacă se ține seama de totalitatea interrelațiilor sale cu gazda.

Dacă rolul activității antifagocitare a bacteriilor în stabilirea interrelațiilor lor cu organismul-gazdă poate fi stabilit cu destulă precizie, acest lucru nu a putut fi făcut în toate cazurile pentru un alt element important în interrelațiile dintre microorganism și gazdă — toxinele bacteriene, care de cele mai multe ori constituie cauza principală a morții în infecțiile bacteriene.

Toxinele bacteriene au fost împărțite în exo- și endotoxine, după o serie de proprietăți caracteristice acestor două grupe de compuși, între care există însă și numeroase forme de trecere.

Dăm în cele ce urmează principalele proprietăți ale endotoxinelor și exotoxinelor (după Aristovski).

Exotoxine	*Endotoxine*
1. Difuzează ușor din celulă în mediu.	Sînt strîns legate de corpul celulei bacteriene.
2. Foarte toxice, cu acțiune selectivă asupra unor organe și țesuturi.	Mai puțin toxice, acțiunea selectivă puțin pronunțată.
3. Termolabile.	Termostabile.
4. Provoacă apariția de anticorpi antitoxici foarte activi.	Acțiunea antiendotoxică a serurilor imune este neînsemnată.
5. De natură proteică, putînd fi scindate de enzime proteolitice.	Multe sînt complexe glucidolipido-polipeptidice rezistente la acțiunea enzimelor proteolitice.
6. Sub acțiunea formolului trec în anatoxine.	Sub acțiunea formolului se detoxifiază numai parțial.

Scanned with OKEN Scanner

Pentru a putea aprecia rolul toxinelor bacteriene în conflictul bacterie-gazdă, trebuie să se ia în considerare atît natura foarte diferită a toxinelor bacteriene, cît şi mecanismul lor de acţiune diferit.

În cazul endotoxinelor de natură glucido-lipido-polipeptidică întîlnite la un număr mare de bacterii Gram-negative, s-au putut stabili pe lîngă caractere specifice şi un număr de proprietăţi comune. Cu toate că specificitatea antigenică şi compoziţia chimică a acestor antigene cu proprietăţi toxice este diferită la diferitele specii bacteriene [1]), totuşi ele prezintă o activitate farmaco-dinamică foarte asemănătoare. În doze mici provoacă ridicarea temperaturii corpului, iar în doze mari scăderea temperaturii, diaree etc.

Endotoxinele au un rol important în patogenia multor infecţii, favorizîndu-le prin activitatea lor antifagocitară şi toxică. Mici modificări în structura antigenică a bacteriilor Gram-negative duc de obicei la scăderea virulenţei lor.

Cercetările lui Boivin şi colaboratori au arătat astfel că inocularea de endotoxină în cazul infecţiei experimentale cu *B. thyphi murium*, în cursul căreia s-a stabilit un anumit echilibru între bacterie şi gazdă, duce la moartea animalelor prin reactivarea bolii. Ei au mai arătat că inocularea concomitentă a unor germeni practic avirulenţi şi a antigenului glucido-lipidic favorizează apariţia unei infecţii experimentale. S-a observat şi o anumită relaţie între toxicitatea antigenului glucido-lipidic şi virulenţa microbului respectiv.

Totuşi există un număr mare de date care arată că nici endotoxina nu poate fi considerată ca singurul factor determinant al acestor procese infecţioase. Complexe glucido-lipidice toxice s-au găsit şi la bacterii nepatogene ca *Cromobacterium prodigiosum* sau *Acetobacter*. Toxicitatea antigenului total nu poate explica de exemplu patogenitatea mare a B. tific şi nici limitarea sa la om (există tulpini de *E. coli* cu o endotoxină mult mai puternică decît a B. tific şi totuşi ele nu produc niciodată un proces patologic atît de intens ca acesta). Deci în mod analog cu hialuronidaza, fibrinolizina şi capsula

[1]) Compoziţia chimică şi toxicitatea endotoxinelor depind mult de metoda de extragere, astfel că de fapt nu se cunoaşte forma reală în care endotoxinele glucido-lipido-polipeptidice se găsesc în organismul microbian (13), cu toate că activitatea lor antigenică specifică a fost bine analizată şi este utilizată pe scară largă în practică.

Scanned with OKEN Scanner

bacteriană, nici endotoxinele nu pot fi privite în mod izolat, ci numai în corelație cu toți ceilalți factori, care determină procesul infecțios, fiind însă în același timp un element important în acest complex de factori.

Exotoxinele bacteriene prezintă proprietăți mult mai variate decît endotoxinele, atît în ceea ce privește modul de acțiune, cît și în privința toxicității lor. La toxina botulinică, 1 mg azot din toxina cristalizată corespunde cu doza minimă letală a 200 milioane șoareci, la toxina tetanică 1 mg azot corespunde la 50-75 milioane doze minime letale, iar la toxina diiterică s-au găsit valori analoge. Toxina *Cl. welchii* este de mii de ori mai puțin activă decît cele precedente, iar în cazul *Cl. chauvei* trebuie inoculată o cantitate de 3—5 cm^3 filtrat de cultură pentru a putea omorî un cobai. Proprietățile chimice și fizice ale exotoxinelor sînt și ele foarte diferite. Greutatea moleculară a toxinei botulinice este de aproximativ 1 000 000, cea a toxinei difterice de 74 000 și a celei scarlatinoase de 14 000. Majoritatea exotoxinelor sînt termolabile, totuși exotoxina scarlatinoasă rezistă la o încălzire scurtă la 100°. Această toxină, ca și cea botulinică, rezistă și la fermenții proteolitici din tractul gastro-intestinal.

Acestor deosebiri mari de toxicitate și de proprietăți fizico-chimice le corespund deosebiri la fel de mari în privința mecanismului lor de acțiune asupra macroorganismului. Toxine cu aceeași acțiune, ca hemolizina din *Cl. welchii*, pneumococ și streptococ și toxinele α și Δ de la *Cl. welchii* acționează prin mecanisme diferite asupra globulelor roșii. Pe de altă parte, toxina α de la *Cl. welchii* și hemolizina O de la streptococii din grupele A, C și G sînt identice din punct de vedere serologic.

Se consideră că majoritatea exotoxinelor au fie o activitate enzimatică proprie, fie că intervin în activitatea enzimatică a gazdei, α-toxina elaborată de *Cl. welchii* este identică cu lecitinaza, toxina K a *Cl. welchii* are o acțiune colagenazică, toxina *Cl. histoliticum* are o intensă activitate proteazică, toxina diftерică, cu toate că se pare că este numai apoenzima citocromului b a bacilului difteric, se crede că ar bloca, avînd o structură analogă, activitatea citocromului b din mușchiul cardiac.

La unele toxine (exotoxina dizenterică Shiga, tetanică și botulinică) se observă o activitate pronunțată asupra sistemului nervos.

Scanned with OKEN Scanner

Faptul că aproape toate exotoxinele necesită, independent de doză, un timp oarecare pentru a acţiona, arată că ele nu blochează în mod direct sisteme metabolice importante, ci acţionează mai curînd în mod indirect, prin devierea reacţiilor metabolice şi a sistemelor enzimatice ale gazdei.

După cum au arătat A. D. Ado (2), A. D. Speranski (185) ş. a., toxinele bacteriene au şi o importantă acţiune indirectă, prin intermediul sistemului nervos central, factor care mult timp nu a fost luat în seamă în cursul studiului interrelaţiilor microorganism-macroorganism.

Multe toxine au o acţiune complexă, conţinînd mai multe enzime şi substanţe proteice de natură neenzimatică (toxinele *Cl. welchii*, stafilococi, streptococi). Toxina scarlatinoasă de exemplu se compune dintr-o exotoxină propriu-zisă, proteine bacteriene, exoenzime şi substanţe cu acţiune alergizantă.

La multe toxine, în special la bacteriile invazive (streptococi, unele clostridii, stafilococi) găsim asociate, hialuronidază, fibrinolizină, hemolizine şi exoproteaze, care contribuie la crearea unor condiţii favorabile dezvoltării microbului în organismul viu.

Varietatea mare a proprietăţilor exoenzimelor, diferitele mecanisme de acţiune asupra organismului-gazdă, faptul că activitatea exotoxinelor bacteriene nu poate fi privită numai prin prizma acţiunii lor directe asupra celulelor sensibile, existînd o acţiune asupra întregului organism, prin intermediul sistemelor de relaţie ale acestuia, fac ca problema importanţei exoenzimelor pentru interrelaţiile microorganismelor cu macroorganismele să fie greu de rezolvat.

În unele cazuri, mai ales cînd este vorba de exoenzime cu acţiune relativ puţin specifică, s-a putut analiza destul de amănunţit rolul lor în interrelaţia microorganism patogen-gazdă (87). Cercetări experimentale cu *Cl. welchii* au arătat că α-toxina, care are o activitate lecitinazică pronunţată, hidrolizează lecitina de pe suprafaţa celulelor musculare şi a hematiilor (acţiune hemolitică). Colageneza (toxina K) şi hialuronidaza degradează substanţa interstiţială dintre fibrele musculare, ducînd la disocierea acestora, iar fermentul dezoxiribonucleaza duce la distrugerea nucleelor fibrelor musculare. Fermentarea glicogenului muscular şi a zaharurilor reducătoare duce la acumularea de bule de gaz. Apariţia edemului şi hidroliza proteinelor musculare sînt fenomene secundare apărute în cursul

procesului infecțios. Edemul apare în urma creșterii permeabilității capilarelor, iar hidroliza fibrelor musculare s-ar datora acțiunii autolitice a fermenților proteolitici din interiorul fibrei. Formarea edemului și procesele de autoliză favorizează însă în același timp și pătrunderea bacteriei și progresarea infecției în profunzime.

Fenomenele generale apărute în cursul gangrenei gazoase se datoresc de asemenea numai în parte acțiunii directe a bacteriei (embolia capilarelor prin picăturile de grăsime apărute sub acțiunea lecitinazei); ele se datoresc într-o bună măsură acțiunii produșilor ce apar în țesuturile lezate.

Acest complex bogat de enzime, caracteristic pentru *Cl. welchii*, nu este totuși suficient pentru a ocroti bacteria de acțiunea mecanismelor de apărare ale organismului normal. *Cl. welchii* se poate dezvolta numai în țesuturi necrozate, care îi opun o rezistență scăzută în comparație cu țesutul normal și la un anumit potențial de oxido-reducere.

Date analoge au fost găsite și la alte bacterii, totuși tocmai în cazul toxinelor celor mai specifice și cu cea mai mare activitate biologică, legătura dintre secreția toxinei și relațiile microorganism-gazdă nu a fost încă stabilită cu precizie. Astfel toxina botulinică, cea mai puternică dintre toxinele cunoscute, este secretată de un saprofit care nu este patogen atunci cînd se găsește în organismul animalelor sensibile la toxina elaborată de el. Tulpina de B. difteric PW8, utilizată în mod curent pentru producerea de toxină, este puțin patogenă. β-hemolizina streptococilor hemolitici scarlatinoși nu atacă eritrocitele de origine umană. La fel, este greu de găsit o legătură între toxicitatea înaltă a toxinei tetanice și utilitatea acestei proprietăți pentru dezvoltarea bacilului în organismul animal, care, după cum se știe, rămîne localizat la locul de infecție.

Analiza rolului toxinelor bacteriene este îngreunată și de faptul că de multe ori, în afara organismului, condițiile necesare pentru o toxigeneză maximă nu sînt identice cu cele necesare unei creșteri maxime. La tulpina PW8 crescută pe mediu semisintetic pe bază de hidrolizat de cazeină, concentrația de Fe^{++}, care asigură o toxigeneză bună, nu poate să treacă de 0,14 mg la 1, în timp ce cantitatea optimă de Fe pentru creștere este mai mare. Pentru formarea toxinei stafilococice sînt necesare tensiuni de CO_2 mai mari decît cele pe care stafilococul le găsește în organismul animal etc.

Scanned with OKEN Scanner

În analiza legăturilor dintre toxicitate și patogenitate, mai trebuie ținut seama și de faptul că unele toxine, ca lecitinaza, se întîlnesc și la bacterii nepatogene, ca *B. cereus* sau *B. mycoides* și că bacterii foarte toxigene, ca *B. difteric,* sau streptococul hemolitic, pot trăi ani de zile în gîtul purtătorilor sănătoși, fără să producă la aceștia procese patologice.

Aceste greutăți în interpretarea datelor cu privire la rolul biologic al toxinelor se datoresc pe de o parte faptului că toxinele bacteriene se studiază în afara organismului viu, pe tulpini „standard", fără a ține seama de interrelațiile cu sistemele metabolice ale macroorganismului și pe de altă parte, faptului că din punct de vedere filogenetic microorganismele patogene nu sînt cu totul izolate de cele saprofite, ele fiind de fapt saprofiți care în cursul evoluției lor s-au adaptat la parazitism.

În ceea ce privește legătura dintre microorganismele saprofite și cele parazite, se poate admite că unii saprofiți adaptați la creșterea pe resturi organice sau în cavitățile organismului au dobîndit proprietatea de a modifica anumiți compuși din mediu proveniți de la organismele vii și avînd la acestea din urmă, uneori o importanță fiziologică deosebită [1]) (87). Datorită acestui fapt, acțiunea toxigenă poate fi uneori numai un fenomen secundar în interrelațiile cu macroorganismul, producerea de toxină avînd un sens biologic cu totul diferit.

Problema rolului toxinelor în interrelațiile dintre microorganismul patogen și gazdă nu poate fi deci nici ea rezolvată în mod simplist. Trebuie ținut seama de istoricul ambilor parteneri, de totalitatea interrelațiilor lor, cît și de faptul că toxinele bacteriene pot avea uneori un rol în viața microorganismului, independent de interrelațiile sale cu organismul animal.

Diferitele probleme atinse pînă acum, ca aceea a pătrunderii selective a microorganismelor prin diferitele porți de intrare, cea a rolului factorilor de invazie și a toxinelor etc., duc toate la problema centrală a interrelațiilor dintre microorganismele patogene și macroorganism, problema specificității agentului patogen și a organotropismului. De ce este gonococul sau bacilul

---

[1]) După cum au arătat o serie de cercetători, rezervorul natural al agenților patogeni ai gangrenei gazoase, a B. tetanic și a B. botulinic, bacterii care se întîlnesc frecvent și în sol, este organismul omului și al diferitelor animale (195).

tific un parazit al omului şi nu al altor mamifere, lipsa patogenităţii pentru om a unor Pasteurelle care produc infecţii grave la animale, cauza pentru care bacilul dizenteric se fixează cu predilecţie în intestinul gros şi nu în cel subţire, sau de ce alte bacterii ca *B. tularensis*, brucellele, B. cărbunos, sînt parazite atît pentru om, cît şi pentru alte mamifere, iată cîteva probleme de o deosebită importanţă practică şi teoretică [1]). În acest domeniu însă, cunoştinţele noastre sînt încă foarte reduse. Puţinele date existente în această privinţă ne arată totuşi natura adaptativă a parazitismului şi a organotropismului diferitelor specii parazite.

În urma pătrunderii microorganismelor patogene în organism, are loc o adaptare a lor la condiţiile din organismul animal, diferite de cele din mediul ambiant. Perioada de incubaţie a diferitelor boli infecţioase se explică nu numai prin timpul necesar dezvoltării şi înmulţirii microorganismului în organismul animal şi prin succesiunile reacţiilor de apărare ale acestuia, dar şi prin timpul necesar adaptării microorganismului la organismul-gazdă, adaptare care se face printr-o reajustare activă a metabolismului său.

În cursul trecerii prin organismul animal se observă în mod frecvent şi o creştere a virulenţei bacteriilor patogene faţă de animalul respectiv. Amintim aici numai experienţele lui Hadley, care prin antrenarea pe animal a unei forme „R" de streptococ A izolată de la un bolnav, a putut să micşoreze doza mortală de la 0,7 cm^3 cultură la 0,0000001 cm^3.

N. I. Joffe (77) şi alţi cercetători au arătat că bacteriile proaspăt izolate din organism posedă antigene comune cu aceasta. G. Lenti (120) inoculînd la iepuri streptococi izolaţi din diferite focare, a observat că ei se localizează în aceleaşi organe ca şi la om.

În legătură cu problema condiţiilor fizico-chimice specifice pe care microorganismul le găseşte în organismul animal, există unele date care arată o adaptare specifică a microorganismului la aceste condiţii.

---

[1]) Datorită specificităţii strînse a legăturii dintre macroorganism şi organismul patogen şi răspunsul specific al diferitelor specii animale la activitatea microorganismelor, mulţi cercetători întîmpină greutăţi serioase în reproducerea bolilor experimentale pe animale (febra tifoidă, de exemplu) şi în interpretarea la om a rezultatelor obţinute la animal.

Scanned with OKEN Scanner

La streptococii din grupul A izolaţi din faringe, s-a observat o adaptare perfectă la pH-ul şi presiunea de bioxid de carbon care există în acel loc. Varianta P-S a unor pneumococi se autolizează repede la 38° şi creşte foarte slab pe medii artificiale la 37°. În condiţiile speciale de pH, tensiune de bioxid de carbon şi oxigen şi de potenţial de oxido-reducere pe care le întîlneşte în organismul animal, această variantă (izolată deseori în cursul unor pneumonii) nu se mai autolizează la 38° şi prezintă o creştere mult mai bogată. *Spirocheta pallida* izolată din organele interne ale iepurilor şi şoarecilor este mai rezistentă la temperaturi înalte decît spirochetele izolate din leziuni tegumentare. Zaharov şi Gudkova au arătat că în rănile proaspete, cu pH acid, predomină anaerobii, ulterior, cînd pH-ul se apropie de neutralitate, încep să predomine streptococii şi stafilococii ; alcalinizarea în continuare a rănilor duce, în sfîrşit, la predominarea proteului.

După K. M. Model (151) oxiacizii şi cetoacizii care se acumulează în diabet sau în unele avitaminoze, favorizează creşterea bacilului tuberculos. Acest fapt ar explica şi gravitatea asociaţiei tuberculozei cu diabetul şi avitaminozele (în special avitaminoza B_1). Model, Potter şi alţii, au căutat să analizeze prin experienţe *in vitro*, condiţiile de viaţă ale bacilului tuberculos în caseum şi în fagocite, unde există o tensiune de oxigen foarte scăzută. Ei au arătat că bacilul tuberculos poate persista şi la o tensiune foarte scăzută de oxigen fără a-şi pierde din virulenţă. Ei au mai stabilit că în absenţa oxigenului şi a umidităţii, bacilul tuberculos poate rezista mult timp fără să se înmulţească, ceea ce ar explica supravieţuirea sa în focarele latente, unde există condiţii de viaţă analoge. Influenţa tensiunii bioxidului de carbon asupra bacilului tuberculos a fost analizată mai ales de Davis, care a făcut o serie de ipoteze asupra legăturii între acţiunea favorabilă a pneumotoraxului şi creşterea tensiunii bioxidului de carbon în plămîn, care devine nefavorabilă dezvoltării bacilului tuberculos.

Datele existente cu privire la fiziologia microorganismelor patogene în mediul lor natural — macroorganismul — sînt totuşi mult mai sărace decît datele care există cu privire la analiza activităţii fiziologice a lor în afara organismului viu, şi mai ales în comparaţie cu datele privind studiul unor procese fiziologice izolate.

Scanned with OKEN Scanner

Datorită cerințelor nutritive specifice ale microorganismelor care se găsesc în interiorul organismului animal, adesea foarte diferite de cele ale microorganismelor respective, crescute pe medii nutritive artificiale, sînt necesare uneori, pentru izolarea microorganismelor patogene din organismul bolnav, medii nutritive speciale. Pentru izolarea brucellelor, de exemplu, este necesară o atmosferă bogată în CO_2 ; pentru izolarea bacteriilor hemofile și a streptococilor se cer medii mai bogate în factori de creștere decît pentru cultivarea lor ulterioară pe medii artificiale etc. Date asemănătoare s-au găsit și pentru B. tuberculos și alte bacterii.

Organotropismul bacteriilor patogene nu se explică însă numai printr-o afinitate biochimică directă pentru țesutul lezat, ci și prin activitatea lor indirectă, mai ales prin intermediul sistemului nervos central al gazdei (un astfel de mecanism se presupune de exemplu în cazul febrei tifoide și al dizenteriei). Organotropismul nu trebuie privit totdeauna numai ca o afinitate mai mare a microorganismului față de diferite țesuturi sau organe, ci deseori el este rezultatul rezistenței mai mici a acestor organe față de acțiunea microorganismului respectiv.

Legătura specifică dintre microorganism și gazdă, legătură care se modifică în mod continuu, odată cu evoluția bolii infecțioase, nu se manifestă numai prin modificări ale metabolismului microorganismului, dar și prin modificări morfologice. Aceste modificări morfologice, mai ușor de urmărit în organismul animal decît cele de ordin biochimic, sînt un indiciu prețios cu privire la modificările adînci suferite de microorganism odată cu pătrunderea sa în organismul-gazdă.

În laboratorul lui S. M. Muromțev (153) s-a urmărit soarta rickettsiilor inoculate pe cale intranazală la șoareci, observîndu-se după 48—70 de ore, apariția unor forme bacilare colorate bipolar ; după 3—4 zile apar forme granulare mici, iar după 6—8 zile apar din nou forme bacilare. Alternanța acestor forme corespunde diferitelor faze ale evoluției bolii experimentale la șoarece.

Skvinski, Medvedeva și Kurionova au observat că spirocheta febrei recurente apare în sînge numai în momentul accesului febril, iar între accese ea se desface în granule (spirochetele izolate între accesele febrile prezintă de altfel caractere antigenice diferite de cele ale spirochetelor izolate în cursul puseului febril).

Scanned with OKEN Scanner

Există și o serie de indicații indirecte cu privire la originea adaptativă a virulenței specifice și a organotropismului în cursul evoluției filogenetice a microorganismelor patogene. Datele experimentale existente în această privință se referă mai ales la modificarea specificității față de animal a unor specii patogene și dobîndirea patogenității de către specii condiționat patogene. În privința dobîndirii patogenității de către saprofiți sub influența macroorganismului, există numai date disparate. V. L. Elin și colaboratori de exemplu (29) au reușit să adapteze *B. subtilis* la organismul animal. Rezultate analoge au fost obținute cu *B. prodigiosum,* care inoculat de repetate ori în testicul a dat după un număr mai mare de astfel de treceri leziuni specifice la nivelul testiculelor, chiar în cazul cînd el a fost inoculat în alte părți ale organismului. Aceste experiențe nu au dus însă la obținerea unor bacterii patogene tipice.

Prin trecerea unor Listerelle în mușchii și creierul șoarecelui, Gudkova a obținut după 15—20 de treceri, tulpini neurotrope și miotrope care se deosebeau de formele inițiale și prin aspectul lor microscopic. Cercetările lui Kourilsky și colaboratori au arătat că se pot obține stafilococi patogeni din stafilococi nepatogeni, prin inocularea acestora în piele, incluși în fragmente de ficat. Ei au arătat că prin inocularea în diferite organe se produce o creștere a virulenței, rezultatele obținute fiind foarte deosebite în funcție de țesutul infectat.

Date deosebit de demonstrative în această privință se pot obține la Pasteurelle, Listerelle și alte microorganisme adaptate la specii animale foarte diferite și care prezintă pe lîngă caractere comune și caractere care se datoresc adaptării lor specifice la animalul pe care îl parazitează.

Zaharov și colaboratori au observat că Listerellele izolate de la rozătoare, porci, cai și rumegătoare, diferă din punct de vedere biochimic și serologic. Totuși prin inocularea unui vițel cu Listerelle de tip „rozător", ele capătă în organismul animal caracterele serologice ale tipului „rumegător" (modificările ereditare suferite de microorganisme sub influența macroorganismelor vor fi tratate însă mai amănunțit în a doua parte a acestei lucrări).

Ca o primă concluzie generală a celor expuse mai sus, se poate remarca existența unei abundențe mari de fapte experimentale izolate și de observații în legătură cu interrelațiile dintre micro- și macroorganism, concomitent cu existența a rela-

Scanned with OKEN Scanner

tiv puține date cu privire la aspectul biologic al acestor interrelații (probleme ca aceea a specificității față de gazdă, a originii parazitismului etc., fiind atinse într-un număr foarte restrîns de lucrări).

Însă chiar în stadiul actual al cunoștințelor noastre se pot trage unele concluzii generale.

Legătura specifică între microorganism și macroorganism (organotropismul, specificitatea față de gazdă etc.) poate fi scoasă în evidență numai dacă se ține seama atît de proprietățile microorganismului și al macroorganismului, cît și de influențarea lor reciprocă în cursul evoluției lor filogenetice. Una din trăsăturile principale ale acestei legături este că ea se modifică în cursul procesului infecțios, virulența microorganismului și activitatea mecanismelor de apărare ale gazdei influențîndu-se reciproc.

Adaptarea la macroorganism și virulența sînt fenomene complexe, a căror analiză nu poate fi redusă la urmărirea unor elemente separate (toxigeneză, formare de capsulă etc.). Existența unor exotoxine de tipul celor tetanice sau botulinice arată și ele toată complexitatea interrelațiilor între microorganism și macroorganism, trebuind să se deosebească deseori patogenitatea care depinde de reacția macroorganismului, de elementele care intervin în adaptarea la parazitism, aceste două aspecte ale interrelațiilor microorganism-macroorganism fiind totuși în majoritatea cazurilor strîns legate între ele.

În același timp însă, datorită unor trăsături comune la specii animale din cele mai diferite, au apărut la diverse specii de microorganisme patogene, pe lîngă trăsături specifice în funcție de gazdă, și caractere comune în linii mari, ca factori de invazie, endotoxine, adaptarea la 37—38°, un anumit grad de auxo- și aminoeterotrofism etc., care ne permit să vorbim de tipul ecologic „microorganism patogen".

2. Importanța microorganismelor pentru nutriția plantelor și a animalelor

Unul din principalii factori care determină interrelațiile între microorganisme și plante și animale este influențarea reciprocă a nutriției lor. Microorganismele din cavitatea intestinală se hrănesc fie cu hrana ingerată de macroorganism, fie cu substanțele produse de acesta ; o influență la fel de mare o pot avea secrețiile radiculare asupra nutriției microorganismelor din

sol. Microorganismele modifică la rîndul lor prin metabolismul lor intens substanţele care servesc ca hrană plantelor şi animalelor şi unele din ele produc factori de creştere importanţi pentru menţinerea echilibrului vitaminic al macroorganismului. Toţi aceşti factori au contribuit la crearea unor biocenoze naturale ca flora microbiană intestinală, flora din rumenul bovinelor sau flora microbiană din rizosfera plantelor, a căror cunoaştere prezintă nu numai un interes biologic general, dar şi un interes practic imediat pentru dietetică, zootehnie sau agricultură.

Dacă în expunerea de pînă acum am insistat mai mult asupra influenţei mediului asupra organismului, în acest capitol am insistat mai mult asupra influenţei microorganismelor asupra mediului lor biologic (în măsura în care aceste două aspecte strîns legate între ele pot fi separate).

a. Microorganismele şi nutriţia animalelor

Flora microbiană normală nepatogenă sau condiţionat patogenă are un rol important în desfăşurarea multor procese fiziologice din macroorganism. Noi ne vom ocupa de două aspecte ale acestei probleme: de interrelaţiile dintre flora intestinală a mamiferelor şi macroorganismul-gazdă şi rolul microorganismelor simbionte endocelulare din insecte.

Rolul deosebit de important al florei intestinale constă în modificarea uneori foarte profundă a alimentelor pătrunse în intestin şi în influenţarea continuă a activităţii vitale a organismului-gazdă, prin produsele sale de metabolism (modificări de pH, producerea de gaze etc.). Ptomainele, secretate de unele bacterii intestinale (substanţe toxice rezultate din decarboxilarea unor aminoacizi) posedă o activitate farmacodinamică pronunţată. Flora microbiană din intestin poate de asemenea influenţa starea de sănătate a macroorganismului prin acţiunea ei de inhibare sau de activare a unor bacterii patogene.

Primul care a arătat importanţa deosebit de mare a florei intestinale, pentru starea de sănătate a macroorganismului, a fost I. I. Mecinikov (142), care considera că flora bacteriană producătoare de putrefacţii este dăunătoare, în timp ce lactobacilii au o influenţă favorabilă asupra organismului uman. Dacă teoriile lui Mecinikov nu au putut fi confirmate în forma lor iniţială, concepţia despre importanţa florei microbiene din intestin pentru starea de sănătate a macroorganismului şi despre importanţa relaţiilor antagoniste dintre multe specii ale

Scanned with OKEN Scanner

florei intestinale au fost pe deplin confirmate de cercetările experimentale ulterioare.

Dintre produsele activității vitale a bacteriilor intestinale, a fost studiată mai ales secreția de vitamine în mediu (78).

Flora intestinală și în special flora din intestinul gros sintetizează cantități importante de vitamine din grupul B, vitamina K și altele. S-a stabilit că microorganismele din intestin produc 8—10% din cantitățile de tiamină, 5—19% din riboflavină, 1,8—3,5% din acidul nicotinic, 11—58% din acidul pantotenic, 130—230% din pirodoxină, 230—430% din biotină, 0,08—0,1% din inozită, 67—72% din acidul folic necesare organismului. Microorganisme care se găsesc în mod constant în intestin, ca *B. coli*, B. proteu, *B. aerogenes*, B. mezenteric ș. a., secretă în mod normal cantități mari de vitamină K, care asigură cerințele organismului în această vitamină.

Din cauza sterilității tubului intestinal, hemoragiile nou născuților datorite lipsei de vitamină K, sînt foarte periculoase. La păsări, se realizează de asemenea, relativ ușor, o avitaminoză K, din cauza lipsei intestinului gros. Din același motiv, avitaminoza H se produce și ea mai ușor la păsări decît la mamifere. Avitaminozele K și H se pot produce însă la fel de ușor și la mamifere, prin sterilizarea conținutului intestinal cu antibiotice.

Vitaminele secretate de microorganisme se formează mai ales în intestinul gros, de unde sînt parțial absorbite de organismul-gazdă (determinări făcute în pereții intestinului au putut stabili în mod direct absorbția vitaminelor pe această cale).

O mare parte din vitaminele sintetizate în intestinul gros sînt eliminate odată cu fecalele. Acest fapt a îngreunat mult determinările necesităților în vitamine ale șobolanilor, care prin coprofagie pot suplini o bună parte din vitaminele din grupul B eliminate din rația lor alimentară [1]).

Flora microbiană intestinală reprezintă o biocenoză complexă, formată dintr-un număr mare de specii bacteriene și acumularea vitaminelor secretate de acestea depinde atît de interrelațiile între diferitele specii de bacterii, cît și de interrelațiile acestora cu macroorganismele.

Pe lîngă microorganisme producătoare de cantități uneori importante de vitamine, există și altele (ca lactobacilii) cu ca-

---

[1]) Coprofagia este de altfel un fenomen obișnuit la șobolani, care își asigură astfel un surplus de vitamine.

pacități de sinteză reduse, care consumă vitaminele produse de primele și care pot duce chiar la un bilanț vitaminic negativ.

Bilanțul vitaminic al florei intestinale depinde într-o bună măsură de condițiile de aerare și nutriție din intestin. În condiții aerobe, flora bacteriană a apendicelui cecal, de exemplu, produce un exces de vitamine, pe cînd în condiții anaerobe, predomină speciile care necesită un aport de vitamine.

Hrana macroorganismului are și ea o mare influență asupra producerii de vitamine. La șobolani, acțiunea cea mai favorabilă pare să o aibă nutriția cu dextrine, care ajung într-o bună măsură nemodificate în intestinul gros, putînd servi ca sursă de carbon bacteriilor producătoare de vitamine. Lactoza care favorizează creșterea lactobacililor consumatori de vitamine are în schimb o influență defavorabilă asupra bilanțului vitaminic al șobolanilor.

Cantitatea de vitamine din hrana organismului-gazdă poate influența și ea bilanțul vitaminic al florei intestinale. Datorită activității de sinteză a florei intestinale, șobolanii pot supraviețui la o rație alimentară care pe lîngă vitaminele liposolubile conține numai tiamină, riboflavină, piridoxină, colină și pantotenat de calciu. Aceste vitamine devin însă insuficiente, dacă la rația alimentară a șobolanilor se adaugă acid paraaminobenzoic sau inozită (137), datorită stimulării creșterii unor microorganisme care consumă vitamine.

În general, flora bacteriană din intestin are mai ales rolul unui tampon biologic. În lipsa unei vitamine din hrană încep să predomine acele microorganisme care o produc în cantitate mai mare, iar în cazul unui exces al unei vitamine în hrană pot să se dezvolte bine și microorganismele care o consumă. Astfel se explică rezultatele experiențelor care au arătat că, independent de cantitatea de acid nicotinic din hrană (între anumite limite desigur) organismul elimină cantități aproximativ constante de acid nicotinic, care există în cantități aproape identice în toate țesuturile organismului.

Experiențe făcute pe animale cecotomizate au arătat că lipsa cecului (principalul organ unde se absorb majoritatea vitaminelor produse de bacterii), influențează bilanțul vitaminic al animalelor în a căror dietă există o carență de vitamine, însă nu influențează animalele hrănite în mod normal. Date analoge s-au găsit în experiențele cu animale al căror intestin era menținut steril în mod artificial. În mod normal însă, prin hrană nu se

pot satisface niciodată toate cerințele în vitamine a macroorganismelor, ceea ce explică importanța microorganismelor pentru nutriția vitaminică a animalelor.

În intestinul mamiferelor există deci un echilibru dinamic al cantității de vitamine, echilibru care este influențat în mod continuu de mediul înconjurător. Acest echilibru este determinat într-o bună măsură de concurența dintre speciile producătoare de vitamine și cele care le consumă, predominanța diferitelor specii fiind determinată de nutriția gazdei.

Pe lîngă importanța microorganismelor pentru nutriția în vitamine a macroorganismului, s-a studiat, mai ales la ierbivore, rolul microorganismelor în degradarea diferitelor substanțe nutritive.

Un rol important al microorganismelor din tractul gastro-intestinal al ierbivorelor și mai ales al celor din rumenul rumegătoarelor, este cel de utilizare a celulozei și ligninei, față de care organismul animal nu posedă enzime active (64). Rumenul conține o bogată floră de microorganisme (pînă la 6 bilioane pe cm^3) compusă din protozoare, actinomicete și bacterii. Cu toate că rumenul nu secretă nici un fel de enzime, în el se produce o degradare rapidă a alimentelor ingerate, în urma activității pronunțate a microorganismelor conținute. Astfel din 10 kg de fîn pătrunse în rumenul unor bovine, se degradează 8,73. Microorganismele din rumen consumă 84,5% din proteine, 74,4% din celuloză și 100% din celelalte glucide. Cu toate că o parte din substanțele nutritive sînt degradate în compuși cu o valoare energetică mai mică (alcooli inferiori, unii acizi grași) totuși, prin faptul că se produce degradarea unor substanțe care altfel nu ar fi accesibile organismului animal, bilanțul substanțelor nutritive este pînă la urmă pozitiv pentru animal (ceea ce se datorește în parte și faptului că pînă la urmă sînt utilizați de către animal și corpii bacterieni). Microorganismele din rumen mai au o importanță mare și prin sinteza de vitamine, mai ales a celor din grupul B.

Flora microbiană din rumen este foarte specifică. Analiza cauzelor acestei specificități este o problemă interesantă din punct de vedere biologic general. Una din cauzele acestei specificități este faptul că rumenul este un mediu foarte constant din punct de vedere fizico-chimic și bogat în alimente care sînt omogenizate în mod continuu prin contracțiile sale. Produșii acizi de metabolism care ar putea inhiba activitatea florei microbiene

sînt neutralizaţi de salivă (cu pH 8,2) secretată în cantităţi mari, astfel că pH-ul din rumen se menţine constant în jurul valorii de 7. Nutriţia vegetală a rumegătoarelor, ca şi temperatura din rumen, se menţin şi ele destul de constante. Toate aceste elemente contribuie la crearea unui mediu constant, deosebit de favorabil pentru microorganismele adaptate la aceste condiţii. Datorită unei adaptări şi selecţii continui, în rumenul diferitelor rumegătoare s-a format o floră bacteriană strict specifică, din care pe medii artificiale pot fi izolate numai cîteva specii. În felul acesta flora microbiană din rumen reprezintă (desigur numai din punct de vedere teoretic), o verigă de trecere în ceea ce priveşte gradul de adaptare la macroorganism, între flora intestinală relativ labilă şi uşor modificabilă de condiţiile de nutriţie şi simbionţii endocelulari ai insectelor dintre care numai puţine specii au putut fi cultivate pînă în prezent pe medii nutritive artificiale.

★

Bacteriile simbionte ale insectelor (52), (89), (189), trăiesc endocelular, deseori în organe speciale numite micetome, bacteriile fiind transmise urmaşilor de cele mai multe ori prin ouăle infectate.

Bacteriile simbionte sînt foarte răspîndite la cele mai diferite specii de insecte. Majoritatea insectelor hematofage au organe speciale în care se găsesc bacteriile simbionte, care par să elaboreze enzime ce permit digestia sîngelui supt. La păduchele uman s-au găsit simbionţi în lipsa cărora nutriţia şi înmulţirea insectei sînt mult slăbite. La *Rhodinus prolixus* simbionţii trăiesc în celulele intestinului anterior. S-a stabilit că este vorba de un actinomicet, care pare să aibă un rol important şi în nutriţia vitaminică. La *Periplaneta orientalis*, simbionţii par a fi necesari numai femelelor la care distrugerea simbionţilor cu ajutorul penicilinei duce la oprirea dezvoltării organelor sexuale (multe alte specii de insecte sînt oprite în dezvoltarea lor, dacă sînt lipsite prin diferite metode de simbionţii endocelulari).

Şi la insecte, unul din rolurile principale ale bacteriilor simbionte intracelulare este cel de aport de vitamine. La *Tribolium confusum* s-a stabilit că microorganismul simbiont sintetizează tiamină, riboflavină, pirimidină, nicotinamidă, acid pantotenic, acid folic, β-alanină şi biotină.

Scanned with OKEN Scanner

Se pare că unele bacterii simbionte au rol de fixatori de azot. Astfel la unii păduchi de frunze completarea hranei azotate se face probabil prin fixarea azotului de către bacterii din genul *Corynebacterium*.

Unii simbionți ai insectelor au și un rol de detoxifiere, prin degradarea acidului uric în amoniac și bioxid de carbon.

Spre deosebire de bacteriile din flora intestinală a mamiferelor, care pot crește ușor pe medii nutritive artificiale, bacteriile simbionte endocelulare nu au putut fi izolate decît în rare cazuri pe astfel de medii. De exemplu din *Blattidae* au putut fi izolați difteroizi (*Corynebacterium periplanetea* var. *americana* și *Corynebacterium blattellae*) care au fost însă contestate de unii cercetători, iar pentru izolarea unor simbionți din *Pseudococcus* a trebuit să recurgă la metode cu totul speciale.

Bacteriile simbionte constituie unele dintre cele mai frumoase exemple pentru evoluția interrelațiilor de simbioză [1]) dintre microorganisme și organismele celulare.

După unii autori, bacteriile simbionte intracelulare provin din bacterii parazite, care s-au adaptat la un anumit echilibru între parazit și gazdă ; după alții, ele ar proveni din saprofiți. Astfel la insecte s-a găsit o întreagă gamă de rickettsii, de la cele patogene pentru gazdă cum ar fi *Rickettsia prowazecki*, pînă la rickettsii simbionte, care se găsesc în micetome ca *Rickettsia lectularia*. Oricare ar fi însă originea lor, se observă deseori o trecere gradată între diferitele tipuri de simbioză. Unul din tipurile cele mai primitive pare a fi cel din diferite pungi intestinale, bacteriile găsindu-se în afara celulelor ; la unele specii se observă trecerea bacteriilor în epiteliul intestinal, trecerea făcîndu-se mai ales la nivelul intestinului mijlociu (de exemplu la *Rhodinus prolixus*). La alte insecte, celulele epiteliale cu simbionți formează un fel de pungi, care la unele se despart complet de intestin, formînd micetome adevărate.

Formarea legăturilor dintre simbiont și gazdă au putut fi urmărite și din punct de vedere filogenetic. Buchner a arătat că unele genuri de insecte au același tip de simbionți, pe cînd la alte genuri există la specii diferite, simbionți diferiți. Aceste

---

[1]) De Bary a utilizat inițial termenul de simbioză pentru conviețuirea a două organisme diferite, independent de rezultatul acestei conviețuiri; definiția sa cuprinde deci relațiile de parazitism. comensualism și mutualism. Ulterior acest termen a fost utilizat pentru interrelațiile de mutualism, în care sens îl întrebuințăm și noi.

deosebiri au apărut din cauză că la primele genuri crearea interrelaţiilor de simbioză s-a petrecut probabil încă la predecesorii genului în cauză, pe cînd în cel de al doilea caz, simbioza s-a constituit abia după apariţia speciilor respective.

Cele expuse pînă aici arată că în interrelaţiile dintre microorganism şi organismul animal poate exista o întreagă gamă de treceri, de la legăturile oarecum labile ale microorganismelor intestinale cu mamiferele, pînă la legăturile deosebit de strînse dintre unele insecte şi simbionţii lor intracelulari, la care a avut loc o adaptare reciprocă atît de strînsă, încît dezvoltarea normală, atît a microorganismului, cît şi a gazdei, devine imposibilă, în absenţa celuilalt partener.

Datorită existenţei acestor forme de trecere, interrelaţiile dintre microorganisme şi animale sînt un obiect de studiu deosebit de interesant pentru urmărirea evoluţiei relaţiilor de antagonism, comensualism şi simbioză.

b. Microorganismele şi nutriţia plantelor

Solul este deosebit de bogat în diferite specii de bacterii, ciuperci, actinomicete şi alte microorganisme, din care cauză agronomia modernă acordă o importanţă tot mai mare rolului microorganismelor în nutriţia şi dezvoltarea plantelor şi în formarea structurii solului.

Cercetători ca Viliams, Dokuceaev, Kostîcev ş. a. au acordat o atenţie deosebită rolului microorganismelor în nutriţia plantelor (32), (104), (147), (148), (158).

La început, se considera că bacteriile şi ciupercile din sol au o importanţă mare numai pentru unele familii de plante leguminoase, orhidee etc., restul plantelor fiind autotrofe şi influenţa florei microbiene din sol asupra nutriţiei lor fiind mai redusă.

Viliams a criticat concepţia unilaterală despre autotrofismul plantelor, care se baza pe experienţe de cultivare a plantelor în soluţii nutritive lichide, arătînd că în condiţii naturale nutriţia majorităţii plantelor depinde de prezenţa microorganismelor din rizosfera lor, care au acolo rolul unui filtru ce selecţionează şi modifică substanţele care ajung la rădăcină.

Viliams împarte plantele din acest punct de vedere în plante autotrofe, bacteriotrofe şi micotrofe.

Cercetările moderne confirmă tot mai mult punctul de vedere al lui Viliams şi al altor agronomi şi microbiologi, des-

Scanned with OKEN Scanner

pre importanța foarte mare a florei microbiene din sol pentru dezvoltarea normală a plantelor și obținerea unor recolte bogate.

Ca o ilustrare a importanței deosebit de mari a proceselor microbiologice din sol, redăm datele lui D. N. Prianișnikov (167), care a arătat că în condițiile din Uniunea Sovietică, bacteriile din nodozitățile leguminoaselor pot înlocui pînă la 50% din azotul din sol, care se consumă prin cultivarea cerealelor ; 16% din azot poate fi dat de fixatorii de azot liberi, aproximativ 17% din azot se poate recîștiga prin îngrășarea pămîntului cu bălegar, unde azotul este mobilizat mai ales datorită activității microorganismelor și numai aproximativ 16% din azot trebuie introdus în sol sub forma de îngrășăminte minerale.

Importanța mare a proceselor microbiologice a dus la întrebuințarea pe o scară tot mai largă a unor îngrășăminte bacteriene ca Azotogen *(Azotobacter)*, Nitragin *(Rhizobium)*, silicobacterii, bacterii care mobilizează fosforul din sol etc. Producerea acestor îngrășăminte bacteriene mai necesită încă un studiu foarte minuțios al interrelațiilor dintre bacterie și plantă și uneori microorganismul trebuie adaptat activ la condițiile de viață pe care i le oferă planta și solul respectiv.

Din această cauză, studiul factorilor care determină răspîndirea microorganismelor în rizosfera plantelor și studiul interrelațiilor lor cu sistemul radicular al plantelor capătă un interes deosebit, atît practic, cît și teoretic.

Calcule destul de aproximative (din cauză că numai o mică fracțiune a bacteriilor din sol pot fi supuse procedeelor obișnuite de numărătoare), au arătat că într-un ha de sol se găsesc pînă la 7 tone de microorganisme, localizate mai ales în jurul rădăcinilor plantelor.

În urma activității metabolice intense a microorganismelor, substanțele nutritive din sol suferă transformări adînci, înainte de a ajunge la rădăcinile plantelor. În felul acesta plantele pot utiliza diferitele resturi vegetale, frunze căzute, bălegar etc. care sînt transformate în compuși mai simpli și mai accesibili plantelor. Microorganismele din sol pot produce astfel pînă la 15 t de CO_2 la ha.

Pentru echilibrul substanțelor nutritive din sol, o importanță deosebită au și substanțele active produse de bacterii. S-a putut stabili că în 100 g rizosferă se găsesc 10 —15 mg tiamină și cantități importante de vitamină B_2, B_6 și eteroauxină. Din 150 de specii de bacterii și actinomicete din rizosferă, tes-

Scanned with OKEN Scanner

tate în privința producerii de eteroauxină, s-a găsit că acest important factor de creștere a plantelor este produs de 60 de specii.

Maisel a putut arăta că în 1 ha de sol se formează 400 g vitamină B_2 și 300 g vitamină B_6.

Cu toate că plantele sînt auxoautotrofe, obținerea vitaminelor în stare preformată favorizează creșterea multora din ele.

Este bine cunoscută și importanța biologică a fixării azotului atmosferic și a mobilizării substanțelor minerale din sol de către bacterii, ca și rolul lor în formarea structurii solului.

Amintim în această privință numai cercetările recente ale lui V. G. Alexandrov (3), care a arătat că silico-bacteriile care mobilizează potasiul insolubil din aluminosilicați au și proprietatea de a fixa azotul atmosferic, contribuie într-o măsură importantă la transformarea rocilor de aluminosilicați în sol fertil, și prin mobilizarea potasiului au un rol important în nutriția minerală a plantelor.

Bacteriile influențează dezvoltarea plantelor nu numai prin metabolismul lor, dar și prin prezența celulelor moarte ale căror produse de autoliză pot fi consumate de plante.

Majoritatea bacteriilor din sol se găsesc în imediata vecinătate a rădăcinilor plantelor (în rizosferă), din care cauză studiul interrelațiilor dintre microorganismele din rizosferă și plante ocupă un loc important în microbiologia solului.

După cum au arătat cercetările lui Krasilnikov, în jurul rădăcinii plantelor există de 5—10 ori mai multe bacterii decît în restul solului. Starkey a găsit că, în timp ce la 30 cm distanță de rădăcinile de trifoi se găsesc 660 000 celule de *Radiobacter* pe cm^3, în apropierea rădăcinilor sînt 3 480 000 celule pe cm^3 și pe suprafața rădăcinilor 1 132 000 000. Date analoge au fost găsite și pentru alte bacterii. Concentrația mare de bacterii din jurul rădăcinilor face ca la acest nivel să existe o cantitate mare de produse rezultate din procesele metabolice ale microorganismelor, care pot influența, fie în mod favorabil, fie defavorabil, plantele respective. Dozările bioxidului de carbon degajat au dat de asemenea valori de patru ori mai mari în rizosferă decît în restul solului.

Legătura dintre plante și microorganismele din rizosfera lor sînt foarte specifice. A. I. Manteufel (136) arăta că în jurul rădăcinilor plantulei proaspăt însămînțate de stejar se formează după cîțiva ani de dezvoltare o floră microbiană cu totul specifică. Bacteria *Clostridium gelatinosum* se găsește în mod

regulat pe suprafața sfeclei, însă nu se găsește niciodată pe suprafața rădăcinilor gramineelor. Jukovski și Teper au arătat că în rizosfera cartofului predomină actinomicete, în rizosfera secarei bacterii nesporogene și micobacterii și în rizosfera trifoiului tot bacterii nesporogene, însă de alt tip decît la secară (Fedorov).

În general, în rizosfera plantelor predomină mai ales bacterii nesporogene *(Pseudomonas, Achromobacter ș. a.)* și în restul solului specii sporogene.

Influența specifică a plantei determină nu numai existența anumitor specii de microorganisme, dar și formarea în cadrul acelorași specii de microorganisme a unor rase mai bine adaptate la planta respectivă. Cercetările lui Isakova și ale altor autori au arătat că în funcție de plantă se formează rase deosebite de *Azotobacter*.

Influența specifică a plantelor asupra microorganismelor din sol nu este importantă numai pentru agricultură, dar și pentru medicina umană și veterinară. Plantele determină și dezvoltarea bacteriilor patogene din sol, putîndu-se ajunge prin cultivarea anumitor plante la asanarea unor soluri infectate. Cercetările lui Arhipov au arătat de exemplu că lucerna, grîul de toamnă, măzărichea etc. inhibă creșterea B. cărbunos, pe cînd cartoful, hreanul sau ridichea, o favorizează.

Unul dintre factorii principali în formarea biocenozelor microbiene în jurul rădăcinilor plantelor îl reprezintă secrețiile radiculare, a căror natură nu este cunoscută decît parțial (140). S-a observat astfel, că secrețiile radiculare ale trifoiului, porumbului, tutunului și ale cruciferelor stimulează creșterea lui *Azotobacter*, pe cînd cele ale grîului de exemplu, au o acțiune inhibitoare asupra sa. Unul dintre primii cercetători care a studiat influența produselor secretate de plante asupra dezvoltării bacteriilor a fost Kostîcev care a arătat că solul neîngrășat care a fost cultivat timp de 12 ani cu tutun este mai bogat în azot (rezultat în urma fixări azotului atmosferic, decît un sol însămînțat numai timp de 2 ani cu tutun. Truffaut și Bezsnoff (201) au arătat că porumbul se poate dezvolta în mod exclusiv pe socoteala azotului fixat de *Cl. pasteurianum* care la rîndul său se dezvoltă prin utilizarea secrețiilor radiculare ale plantei [1]).

[1]) În mod normal, secrețiile radiculare nu sînt însă suficiente și este nevoie și de un aport de substanțe nutritive din mediul ambiant.

Secreţiile radiculare ale plantelor pot ajunge la cantităţi destul de importante. Lyon şi Wilson au arătat că aceste secreţii pot ajunge în cursul dezvoltării plantelor pînă la 5% din greutatea uscată a lor.

Analiza secreţiilor radiculare ale porumbului a arătat că ele conţin substanţe uşor utilizabile de către bacterii, ca zaharuri şi acid malic. Este însă probabil că în condiţiile solului, secreţiile radiculare ale plantelor diferă de cele care se obţin prin cultivarea lor în condiţii artificiale. Un rol de stimulare deosebit de mare pare să-l aibă consumarea continuă a substanţelor secretate de plante, de către flora microbiană, deoarece, după cum a arătat Demidenco, prin îndepărtarea continuă a secreţiilor radiculare, prin schimbarea lichidului de cultură, cantitatea creşte cu 77% şi mai mult (Fedorov).

Secreţiile radiculare ale plantelor pot schimba şi pH-ul din jurul rădăcinilor; astfel mazărea şi lupinul acidifică solul, în timp ce ovăzul şi secara îl alcalinizează. Rădăcinile influenţează şi umiditatea solului, ca şi gradul său de aerare, constituind prin aceasta un alt factor important pentru dezvoltarea bacteriilor din rizosferă.

Importanţa secreţiilor radiculare este mai mare în solurile sărace, în care ele formează uneori cea mai mare parte a hranei microorganismelor.

Influenţa specifică a secreţiilor radiculare asupra florei microbiene din rizosfera diferitelor plante este indicată şi de cantitatea diferită a secreţiilor radiculare la diversele specii de plante. R. L. Starkey (188) a arătat că porumbul produce 1 113 mg secreţii radiculare în cursul unei perioade de înflorire, pe cînd tutunul formează numai 486 mg. N. V. Meşkov (139) a găsit cantităţi deosebit de mari de secreţii radiculare la leguminoase.

Desigur că numai datele pur cantitative cu privire la secreţiile radiculare ale plantelor nu pot explica influenţa profundă şi specifică a acestora asupra microorganismelor din sol, ci trebuie cunoscute atît deosebirile cantitative, cît şi cele calitative, între secreţiile radiculare ale diferitelor specii de plante. Studiul acestui aspect al interrelaţiilor dintre plante şi microorganisme este abia la început.

În analiza influenţei secreţiilor radiculare asupra microorganismelor din sol trebuie ţinut seama şi de faptul că de multe ori ele pot avea o influenţă nefavorabilă asupra acestora.

Scanned with OKEN Scanner

Substanțe volatile de tipul fitoncidelor descoperite de B. P. Tokin (199), ca și substanțe nevolatile cu o pronunțată acțiune bacteriostatică, care au fost găsite la multe plante superioare, influențează desigur în mod profund flora microbiană din jurul rădăcinilor.

În studiul influenței secrețiilor radiculare trebuie să se țină seama și de faptul că secretarea lor poate varia mult odată cu dezvoltarea plantei (porumbul, de exemplu, prezintă un maximum de secreții radiculare în perioada de înflorire), precum și de faptul că secrețiile radiculare nu influențează specii izolate, ci o biocenoză, în care aceste specii se găsesc în strînsă interdependență. Datorită acestui fapt, dezvoltarea unor anumite specii microbiene poate fi influențată în mod indirect prin stimularea sau inhibarea unor specii antagoniste. Astfel Fedorov și Teper au arătat că lipsa *Azotobacter*-ului din rizosfera lintei nu se datorește influenței directe a secrețiilor radiculare ale acesteia, ci activării unor specii antagoniste.

După cum am arătat, flora microbiană din rizosfera plantelor formează la rîndul ei o serie de substanțe importante pentru dezvoltarea plantelor. Posibilitatea utilizării de către plante a unor substanțe complexe produse de microorganisme a putut fi dovedită în ultimul timp în mod experimental de N. A. Krasilnikov (101), (105), cu ajutorul unor antibiotice. El a arătat că antibioticele produse de bacteriile din rizosfera mazării și a grîului pot pătrunde în interiorul plantei, răspîndindu-se în diferitele ei organe. Același lucru s-a constatat și în cazul unor antibiotice purificate, ca penicilina și streptomicina. S-a remarcat de asemenea, că plantele se comportă în mod electiv față de substanțele antibiotice produse de bacterii, cele toxice fiind reținute în rădăcini, pe cînd cele fără activitate nocivă pot fi găsite în toate organele plantei [1]).

Interrelațiile uneori foarte specifice ale plantelor cu microorganismele producătoare de antibiotice pot avea deseori și un rol important de apărare împotriva unor microorganisme fitopatogene. În ultimul timp se fac încercări de a trata semințele plantelor cu antibiotice și, pe de altă parte, de a influența în mod activ componența în microorganisme a rizosferei unor

---

[1]) Prin analogie se poate presupune că plantele pot absorbi și alte substanțe complexe produse de microorganismele din sol (produse de degradare a proteinelor sau vitamine).

plante de cultură prin introducerea unor specii antagoniste faţă de microorganismele fitopatogene.

În studiul influenţei microorganismelor din sol asupra plantelor trebuie avută în vedere nu numai influenţa asupra plantei respective, dar şi asupra plantelor care vor fi însămînţate în anii viitori. Pe baza cercetărilor făcute în Institutul de microbiologie al Academiei de Ştiinţe a U.R.S.S., s-a stabilit că în unele condiţii de sol, în urma cultivării lucernei se acumulează substanţe hidrosolubile toxice pentru bumbac şi se presupune că aceste substanţe sînt produse de bacteriile din rizosfera lucernei. S-a constatat că lucerna poate favoriza şi creşterea ciupercii fitopatogene *Fusarium*, ceea ce poate influenţa recoltele ulterioare de grîu. Date analoge au fost găsite şi de Krasilnikov şi Garkina. De influenţe de acest fel trebuie ţinut seama în toate cazurile de alternare a unor culturi agricole.

În urma interrelaţiilor multiple dintre microorganismele din sol şi plantele superioare, în jurul rădăcinilor acestora se formează un mediu specific, cu o anumită compoziţie a aerului, o anumită umiditate şi anumite substanţe nutritive de concentraţie şi compoziţie bine determinată. Prin aceasta, condiţiile de viaţă din sol devin cu totul altele, atît pentru plantă, cît şi pentru microorganisme, decît cele găsite în cursul studiului lor separat, pe medii nutritive artificiale.

Vedem deci că interrelaţiile dintre plante şi microorganisme sînt la fel de complexe ca şi cele dintre animale şi flora microbiană din cavităţile lor. În cursul dezvoltării lor, plantele determină apariţia unei biocenoze specifice, a cărei compoziţie este determinată de specia plantei, vîrsta ei şi toate celelalte elemente din sol. În cazul folosirii unor îngrăşăminte minerale şi mai ales a unor îngrăşăminte bacteriene, trebuie avută în vedere nu numai influenţa lor asupra plantei, dar şi influenţa asupra întregii biocenoze din rizosfera plantelor, ca şi modificările pe care planta le suferă în urma acţiunii acestei biocenoze.

Importanţa deosebită a legăturilor dintre plante şi diferitele specii de microorganisme a făcut ca în cursul evoluţiei filogenetice a plantelor şi a microorganismelor să apară, datorită unor procese de adaptare şi selecţie, specii simbionte de microorganisme, care în unele cazuri au devenit absolut necesare pentru dezvoltarea normală a plantelor respective.

Scanned with OKEN Scanner

Formele cele mai bine studiate de simbioză între plante și microorganisme sînt micorhizele și simbioza dintre leguminoase și diferitele specii de *Rhizobium*.

Micorhizele (66), (127), (149), (180) sînt simbioze între plante și ciuperci, în care celulele rădăcinilor plantelor și ciupercile sînt atît de strîns legate între ele, încît nu pot fi deosebite decît cu mare greutate.

Existența micorhizelor de pe suprafața rădăcinilor plantelor schimbă cu totul nutriția acestora, ceea ce a determinat pe Viliams să numească plantele respective micotrofe.

Micorhizele, descrise pentru prima dată de F. M. Kamienski (85) au fost găsite la un număr mare de plante (orhidee, conifere, stejar, ulm, grîu, orez, porumb, sfeclă, viță de vie etc.).

Micorhizele sînt obligatorii pentru multe specii de orhidee și unele ierburi ; la alte plante ajută mult la dezvoltarea lor normală (stejar, fag, conifere etc.).

După localizarea lor, ele au fost împărțite în ectotrofe, așezate la suprafața rădăcinilor, și endotrofe, care pătrund în interiorul acestora, fără a atinge însă cilindrul central. Pot să existe însă și forme intermediare între micorhizele endotrofe și cele ectotrofe [1]).

Spre deosebire de legătura dintre bacteriile din nodozități și planta-gazdă, care este foarte specifică, legătura între ciupercile micorhizice și plante este deseori mai puțin specifică. La orhidee, de exemplu, întîlnim mai ales ciuperci endotrofe de tipul *Rhizoctonia*, care însă pot fi ușor înlocuite cu Penicillii și specii de *Phytophthora* sau Basidiomicete. Basidiomicetele, care formează micorhize la multe plante superioare, pot fi și ele înlocuite uneori cu alte ciuperci. Faptul că plantele superioare pot intra în legături simbiotice cu diferite ciuperci este foarte important și pentru practica agricolă, fiecare specie de ciupercă influențînd desigur altfel nutriția plantelor respective.

Ca exemplu pentru lipsa de specificitate a unor ciuperci micorhizice pot servi și experiențele școlii lui I. Magrou (22) care a putut infecta, în condiții de cîmp, cartofi cu ciuperci provenite de la *Solanum dulcamara* sau chiar de la plantele care fac parte din alte genuri. Practic însă, în condiții naturale (pădure, luncă, stepă etc.), pe anumite specii de plante se

---

[1]) În ultimul timp se tinde a se da denumirea de micorhize peritrofe unor asociații cu ciuperci simbionte cu rizosfera plantelor.

găsesc de obicei aceleaşi ciuperci, ele fiind probabil mai bine adaptate, atît la planta respectivă, cît şi la condiţiile de viaţă ale acesteia. O dovadă a existenţei unui anumit grad de adaptare specifică a ciupercii la planta superioară este dificultatea izolării în culturi pure a multor specii de ciuperci micorhizice, cum ar fi cele de la stejar sau fag, care necesită o serie de factori de creştere suplimentari şi pe care îi găsesc în ţesutul radicular al plantei respective. Cercetările lui Ia. Hudiakov şi I. M. Vosnesovskaia (66) au arătat că *Boletus edulis*, *Boletus luteus* şi alte specii de ciuperci micorhizice sînt aminoeterotroîe şi auxoeterotrofe. În mod analog cu unele microorganisme patogene, aceste ciuperci micorhizice se pot de asemenea adapta la medii nutritive mai sărace.

Dovezi pentru adaptarea specifică la gazdă găsim şi la acele ciuperci micorhizice care se pot izola mai uşor pe medii artificiale, cum sînt cele de la orhidee. Acestea, după un număr de treceri pe medii nutritive artificiale, pierd capacitatea de a infecta orhideele de la care provin, putînd să redobîndească însă această proprietate prin cultivări repetate pe orhideea de origine. Specificitatea este deci în acest caz o proprietate dobîndită, care se întăreşte în contact cu planta-gazdă.

Posibilitatea stabilirii unei legături micorhizice între anumite plante şi ciuperci este determinată şi de celelalte microorganisme din sol. Astfel, experienţa plantării perdelelor forestiere în Uniunea Sovietică a arătat că aclimatizarea unor plante din condiţii de pădure, în condiţiile de stepă, este uneori îngreunată de activitatea antagonistă a unor bacterii din stepă, care nu permit dezvoltarea normală a ciupercilor micorhizice. Pînă şi faptul dacă aceeaşi ciupercă va forma o micorhiză endotrofă sau ectotrofă poate fi influenţat de condiţiile solului.

Problema legăturii specifice dintre plantele superioare şi ciupercile micorhizice este deci o problemă foarte complexă, determinată atît de interacţiunea dintre plantă şi ciupercă, cît şi de toţi ceilalţi factori din mediu.

Problema legăturii fiziologice dintre plantă şi ciupercă a fost studiată mai ales din punctul de vedere al nutriţiei plantelor. Se pare că asemenea bacteriilor din rizosfera plantelor, micorhizele au un rol important în utilizarea substanţelor organice greu asimilabile. Producînd fermenţi care degradează peptonele, proteinele şi polizaharizii greu asimilabili, trans-

formă resturile vegetale din sol într-o formă care poate fi asimilată de către plante (monozaharide, acizi organici, NH_3). Astiel, degradarea celulozei în glucoză a putut fi stabilită la ciuperci micorhizice din genul *Boletus*. S-a stabilit că *Pinus toledo* nu poate crește într-o atmosferă lipsită de CO_2 în absență de micorhize, iar *Pinus echinata* utilizează 86% mai mult azot, 75% mai mult potasiu și 239% mai mult fosfor, cînd este infectat cu ciuperci micorhizice. Micorhizele par să aibă la unele plante și un rol în nutriția lor vitaminică (s-a observat formarea de vitamine din grupul Bios, de vitamină C etc.).

După N. Bernard, I. Magrou (127) și alții, micorhizele au un rol important în transformarea plantelor anuale în bianuale și în formarea tuberculilor (tuberculii de orhidee nu se formează în absența micorhizelor).

După N. Bernard, tuberculii orhideelor se formează prin creșterea presiunii osmotice în urma degradării polizaharizilor, realizată de ciupercă; același efect poate fi realizat și în absența ciupercilor, prin cultivarea plantei în soluții nutritive cu o presiune osmotică mărită. Cu toate că se poate ajunge, deci, și în condiții artificiale de laborator, sub acțiunea unor factori nespecifici, la formarea de tuberculi, în natură plantele reacționează în mod specific la acțiunea ciupercii micorhizice. Experiențele lui E. Gäumann (48) au arătat că tuberculii formează în prezența infecției micorhizice o substanță specifică, care inhibă dezvoltarea ciupercii și nu permite pătrunderea ei în tubercul.

După Magrou, la originea formării tuberculilor de cartof este o influență micorhizică, cu toate că, cartoful cultivat nu posedă micorhize. La cartoful sălbatic din America de sud și la *Solanum dulcamara* există însă ciuperci micorhizice. Însămînțarea cartofului sălbatic pe pămînt steril nu dă naștere la plante cu tuberculi, dacă se însămînțează însă pe un sol cultivat în prealabil cu *Solanum dulcamara*, cartoful va fi infectat de micorhizele acestei plante și va forma tuberculi.

Cu privire la influența plantelor asupra dezvoltării micorhizelor și cu privire la mecanismul de formare a micorhizelor, se cunosc mult mai puține date. Se crede că ciupercile ar utiliza zaharuri formate din plante și că planta ar asigura (Viliams), în condiții anaerobe, nutriția cu oxigen a ciupercilor.

Interrelațiile dintre ciupercile micorhizice și plantele superioare nu sînt în toate cazurile relații de ajutor reciproc

(s-au descris toate formele de trecere între simbioză şi parazitism). Astfel, la cartofii infectaţi experimental cu ciuperci micorhizice, micorhizele se formează numai la o parte a plantelor, majoritatea acestora distrugînd ciupercile prin sistemele lor de apărare. Posibilitatea stabilirii unor relaţii de simbioză depinde şi de nutriţia plantelor. În cazul cînd plantele trăiesc într-un sol insuficient de bogat în azot şi substanţe minerale, micorhizele se dezvoltă greu, probabil din cauză că le lipsesc glucidele care sînt utilizate de către plantă pentru sinteza proteinelor şi a substanţelor de rezervă. G. A. Nadson a putut arăta că interrelaţiile dintre stejar şi ciupercile micorhizice pot varia de la simbioză la parazitism în funcţie de condiţiile de mediu. Date asemănătoare au fost găsite şi la castan. Toate acestea arată importanţa studierii tuturor faptelor care determină interrelaţiile dintre plantă şi ciupercă şi mai ales importanţa studiului aprofundat al factorilor care determină legătura fiziologică dintre simbiont şi plantă.

Problema legăturii specifice dintre leguminoase şi bacteriile din nodozităţi prezintă unele aspecte asemănătoare cu cele ale legăturilor dintre micorhize şi plantele superioare (173).

Activitatea favorabilă a leguminoaselor asupra fertilităţii solului este un fapt cunoscut de mult. Hellriegel şi Willfürth au stabilit că leguminoasele pot fixa azotul atmosferic şi, ulterior, Beijerinck (1888) a găsit că fixarea de azot din nodozităţile de pe rădăcinile leguminoaselor se datoreşte activităţii unor bacterii nesporulate, numite de el *Bacillus radicicola* şi care sînt incluse astăzi în genul *Rhizobium*.

Tabloul nr. 7

Influenţa fixării azotului atmosferic asupra acumulării de azot şi carbon în plante

Planta	Creşterea în greutate în g				
	Total	Carbon	Hidrogen	Oxigen	Azot
Trifoi	2,574	1,276	0,176	1,026	0,042
Grîu.....	1,378	0,689	0,078	0,608	0,003

Pentru a putea aprecia importanţa acestor bacterii pentru economia plantelor, redăm după Stephenson bilanţul în

substanțe organice și azotate al trifoiului și grîului crescute pe același sol.

După Prianișnikov, pe 1 ha însămînțat cu trifoi se fixează anual 300—400 kg de azot atmosferic.

Nodozitățile nu se formează numai pe rădăcinile leguminoaselor, dar și pe ale altor plante, ca *Elaeagnus angustifolia, Cycas revoluta, Miryca gale, Alnus* etc. Adesea ele sînt localizate pe frunze. În total s-au descris peste 200 de specii de plante, făcînd parte din 5 genuri diferite la care se formează nodozități, dintre care multe par să aibă un alt rol decît cel de fixare de azot. La *Alnus*, de exemplu, s-a observat o creștere mai bună a plantelor care posedă nodozități, fără să se poată izola fixatori de azot, iar la *Ardisia crispa* lipsa bacteriilor simbionte duce la o creștere anormală a vîrfului vegetativ.

Formarea de nodozități sub influența celor mai diferite bacterii nu poate fi însă interpretată ca o convergență a caracterelor acestor bacterii sub influența acelorași condiții de viață, ci mai curînd ca o reacție de același tip a plantelor, la activitatea unor bacterii diferite.

Deoarece interrelațiile plantelor din alte familii decît leguminoasele, care posedă nodozități, cu bacteriile din interiorul nodozităților, sînt puțin cunoscute, ne vom ocupa în cele ce urmează numai de interrelațiile dintre leguminoase și *Rhizobium*.

Ceea ce caracterizează bacteriile din nodozitățile diferitelor leguminoase este specificitatea lor strictă față de gazdă. Bacteriile de la *Vicio faba* nu pot crește pe *Pisum sativum*, cele de la lupin nu pot forma nodozități pe trifoi ș.a.m.d. Cauzele acestei specificități pronunțate sînt încă în general puțin cunoscute ; ele au fost ceva mai bine studiate la lupin. La această plantă s-au izolat diferiți alcaloizi, lupinina, lupinidina, luponina etc., a căror cantitate și compoziție diferă la diferitele specii de lupin în legătură cu acest fapt s-a găsit că diferitele tulpini de *B. rhizobium* simbionte la lupin sînt adaptate la cantitatea și felul alcaloizilor existenți în planta respectivă. Pe de altă parte, bacteriile influențează la rîndul lor formarea de alcaloizi de către plantă, cantitatea acestora scăzînd în cazul dezvoltării mai bogate a nodozităților. Speciile de *Rhizobium* adaptate la diferitele specii de leguminoase prezintă și deosebiri de ordin morfologic și biochimic.

Scanned with OKEN Scanner

Ceva mai multe date se cunosc în legătură cu mecanismul interacțiunii dintre plantă și bacterie în cursul formării nodozităților (32), (161). Celulele de *Rhizobium* care se găsesc în sol sînt atrase spre plantă de secrețiile radiculare, care exercită o acțiune chimiotactică pozitivă asupra lor. Între substanțele secretate de rădăcinile leguminoaselor s-a găsit acid malic, glucide și acid aspartic. Experiențele făcute de Fedorov au arătat că glucoza și, mai ales, acidul aspartic, au o acțiune de stimulare a fixării azotului. O activitate deosebit de favorabilă asupra dezvoltării *Rhizobium*-ului are chiar țesutul plantei-gazdă, care pare să conțină și substanțe asemănătoare cu vitaminele, necesare bacteriilor din nodozități.

Bacteriile care se găsesc în contact cu rădăcinile pot pătrunde numai în perii radiculari, lipsiți de celuloză, cărora le hidrolizează pereții celulari cu ajutorul enzimei pectinază (după Izrailski, în rădăcină nu ar pătrunde formele tipice de *Rhizobium* care se găsesc în sol, ci numai formele filtrabile). Odată pătrunse în interiorul rădăcinii, bacteriile formează acolo un filament infecțios care conține un număr mare de bacterii și prezintă un strat superficial care apără bacteriile împotriva sucului celular acid din rădăcină.

La unele leguminoase, infectarea poate decurge și în alt mod, fără formare de cordon infecțios. Cordonul infecțios activează (prin mecanisme încă necunoscute) formarea unui meristen, care ulterior dă naștere la nodozitate. În același timp, filamentul infecțios pătrunde în celulele bogate în protoplasmă, care provin din diviziunea meristenului. Filamentul infecțios este înconjurat de citoplasma celulară, care se condensează în contact cu ele, fenomen ce constituie probabil o reacție de apărare a gazdei. După un timp se produce, în special la capetele cordonului, o rupere a membranei superficiale a cordonului și bacteriile încep să se dezvolte în interiorul citoplasmei celulelor din nodul, ceea ce la majoritatea leguminoaselor duce la oprirea dezvoltării celulelor respective. Ulterior, o parte din celulele pătrunse în protoplasma celulară a gazdei își schimbă complet aspectul morfologic, transformîndu-se în bacterioizi, care pînă la urmă sînt digerați de către gazdă. Celulele din interiorul cordonului rămîn viabile și pot pătrunde după moartea rădăcinii, din nou în sol.

Cazul formării nodozităților constituie unul din cele mai frumoase exemple de determinare a dezvoltării, atît a gazdei

Scanned with OKEN Scanner

cît și a simbiontului, sub influența interacțiunii lor reciproce.

Bacterioizii sau celelalte forme morfologice ale bacteriilor care apar în nodul, pot fi obținute și în afara sa, dar alternarea strictă a formelor și evoluția proprietăților fiziologice ale bacteriilor, care se observă în nodul, nu au putut fi repetate experimental în afara sa, ele fiind determinate în mod istoric printr-o interacțiune de lungă durată a bacteriei cu specia de plantă dată.

Bacteriile pătrunse în rădăcini capătă proprietăți fiziologice noi, în primul rînd aceea de a fixa azotul atmosferic, care pe medii artificiale nu are loc decît în cantități minime.

Factorii fiziologici care intervin în legătura dintre gazdă și simbionți, diferă în funcție de dezvoltarea plantei. În prima perioadă de dezvoltare a plantei nu are loc nici un fel de fixare de azot, bacteriile hrănindu-se probabil cu azotul din plantă. Ulterior, mai ales în perioada înfloririi, are loc o fixare importantă de azot, care este utilizat de către plante (pînă la 75% din azotul fixat în nodozități). Azotul fixat se acumulează în nodozități mai ales sub formă de uree, aminoacizi și proteine, care sînt utilizate de plantă. El se mai acumulează și în componentele corpului bacterioizilor, care după moartea lor, sînt utilizate pînă la urmă tot de plantă. Fixarea de azot pare să fie realizată atît de către bacteriile tipice, cît și de către bacterioizii mai tineri. Bacterile fixează azotul dizolvat în vacuolele celulelor infectate și utilizează ca sursă de carbon glucide și probabil și alte substanțe organice formate de gazdă.

În ceea ce privește influența diferiților factori asupra formării nodozităților, s-au găsit fenomene asemănătoare cu cele observate la formarea micorhizelor, factorii ecologici asemănători (dintre care principalul este chiar prezența planteigazdă) ducînd la fenomene de convergență de ordin fiziologic, la organisme atît de îndepărtate din punct de vedere filogenetic, ca ciupercile micorhizice și *Rhizobium*.

Formarea nodozităților poate depinde de secrețiile radiculare ale altor plante (F e d o r o v a găsit o acțiune de activare din partea secrețiilor rădăcinilor de porumb), ca și de prezența altor bacterii. Nodozitățile se formează mai ușor la plante slăbite decît la plante viguroase, ceea ce explică după unii autori acțiunea defavorabilă a unor îngrășăminte azo-

tate, care ar întări planta și astfel bacteriile nu ar mai putea pătrunde în interiorul rădăcinilor. Lipsa unor elemente minerale din sol (bor, molibden etc.) inhibă fixarea de azot, bacteriile din nodozități utilizînd în acest caz exclusiv substanțele azotate și carbonate ale gazdei și devenind parazite. Intensitatea sintetizării zaharurilor de către plante influențează de asemenea în mare măsură fixarea de azot în nodozități, o fixare bună de azot putînd avea loc numai în cazul unui aport suficient de zaharuri.

Intensitatea fixării de azot depinde mult și de virulența rasei de *Rhizobium* [1]). Virulența diferită a raselor de *Rhizobium* se manifestă atît în deosebiri în fixarea de azot, cît și în forma diferită a nodulilor și a bacteriilor din interiorul nodulilor. Virulența raselor de *Rhizobium* poate fi mărită uneori în mod artificial, prin cultivarea lor repetată pe aceeași plantă (4).

Datorită interrelațiilor variabile, în funcție de mediu, dintre gazdă și bacterie, ca și datorită deosebirilor de virulență a diferitelor rase de *Rhizobium*, se pot constata toate formele de trecere, de la lipsa formării de nodozități, pînă la formarea unor nodozități mari în partea superioară a rădăcinilor, în care se fixează cantități mari de azot atmosferic.

Relațiile variate dintre plantă și bacterie, care se observă în cursul interrelațiilor leguminoaselor cu diferite specii de *Rhizobium*, ca și dependența strînsă a acestor interrelații de condițiile mediului, fac ca studiul lor, ca și cel al micorhizelor, să fie deosebit de important pentru urmărirea fenomenelor de simbioză, comensualism și parazitism. Interrelațiile dintre *Rhizobium* și plantă nu pot fi însă încadrate complet în nici una din aceste categorii, ele varind în funcție de factorii, dintre care unii au fost amintiți mai sus.

Cu toate deosebirile mari care există între condițiile de viață ale bacteriilor din rizosfera plantelor, din nodozități, din micetoamele insectelor sau din intestinul ori sîngele mamiferelor, cu toate că reacția macroorganismului față de microorganism poate fi foarte diferită, la multe microorganisme care sînt în contact strîns cu un macroorganism, s-au format unele trăsături comune.

---

[1]) Fedorov și alți autori consideră termenul de virulență ca necorespunzător, el avînd un alt conținut decît cel al virulenței microorganismelor patogene.

La numeroase microorganisme (ciupercile din micorhize, *Rhizobium*, multe bacterii patogene), se observă un grad mai mare sau mai mic de aminoeterotrofism și auxoeterotrofism, din cauza obținerii acestor compuși de la macroorganism.

La multe microorganisme se observă modificări importante ale caracterelor lor morfologice și fiziologice, în urma contactului lor cu macroorganismul. Atît la *Rhizobium*, cît și la micorhize și bacterii patogene, se observă o creștere a virulenței în urma trecerilor repetate pe aceeași gazdă.

Relațiile dintre micro- și macroorganism nu sînt stabile și se modifică atît în funcție de starea macroorganismului și a microorganismului cît și în funcție de condițiile mediului ambiant (boală latentă sau acută, trecerea de la simbioză la parazitism etc.). Deseori se observă o alternare regulată a proprietăților microorganismului în cursul relațiilor sale cu macroorganismul (modificarea proprietăților microorganismelor în funcție de evoluția bolii, evoluția proprietăților bacteriilor din nodozități și probabil și a bacteriilor simbionte de la insecte etc.).

Aceste proprietăți comune apărute la microorganisme foarte diferite, adaptate la macroorganisme, făcînd parte atît din regnul vegetal, cît și din cel animal, se pot explica numai dacă se admite că datorită condițiilor de viață asemănătoare în unele privințe, care se formează în urma interrelațiilor dintre microorganism și macroorganism, apare prin adaptare și selecție un tip ecologic comun la cele mai diferite microorganisme, care în același timp însă, prezintă în fiecare caz caractere foarte specifice în funcție de micro- și macroorganismul respectiv.

3. Interrelații între microorganisme

Din cauza proprietăților fiziologice foarte variate ale diferitelor specii de microorganisme și din cauza intensității mari cu care decurg procesele lor metabolice, interrelațiile cu alte specii de microorganisme au o importanță mare în viața lor. Dacă pentru unele substanțe naturale nu există nici o concurență între organismele pluricelulare și microorganisme (celuloză, chitină, parafină etc.), nu există aproape nici un mediu natural în care un microorganism să se poată dezvolta mai mult timp, fără apariția unor microorganisme concurente.

Scanned with OKEN Scanner

La fel de importantă este şi influenţarea de către alte microorganisme a nutriţiei şi a proceselor metabolice ale microorganismelor ; activitatea diferitelor specii de microorganisme schimbă de multe ori caracterele chimice şi fizice ale mediului nutritiv (pH, presiune osmotică, viscozitate şi uneori chiar şi temperatura mediului etc.).

Toate aceste fapte au făcut ca rezultatele găsite cu privire la comportarea unor microorganisme în mediul lor natural să nu corespundă deseori cu cele găsite în laborator, în cursul experienţelor făcute cu culturi pure de microorganisme.

Studiul asociaţiei B. tific şi B. morgan, de exemplu, a arătat că în asociaţia acestor bacterii se formează în prezenţa anumitor zaharuri metaboliţi gazoşi, pe care nici unul din cei doi germeni nu-i produce în culturi izolate.

Duliakova a arătat că *Saccharomyces apiculatus,* care de obicei nu fermentează zaharoza, o fermentează atunci cînd este crescut în culturi mixte. S-a observat, de exemplu, că unele bacterii care acidifică mediul de cultură, inhibă formarea de toxină de către *Cl. botulinicum,* fără ca acidifierea singură să aibă această acţiune. S-a găsit de asemenea o inhibare a formării toxinei botulinice în cursul creşterii bacteriei în culturi mixte cu *Cl. sporogenes.* În ambele cazuri descrise, creşterea *Cl. botulinicum* decurge în mod normal.

Creşterea în culturi mixte poate modifica şi optimul de pH al unor bacterii. B. tuberculos, crescut în asociaţie cu un bacil sporulat anaerob cu optim de pH 8,5—9, creşte şi el bogat la acest pH. Se cunoaşte favorizarea creşterii anaerobilor de către bacteriile aerobe, ceea ce explică în parte existenţa unor anaerobi ca B. tetanic, chiar la suprafaţa solului etc.

Pentru a ilustra complexitatea interrelaţiilor ce pot apărea în condiţii naturale între microorganisme care trăiesc în acelaşi mediu, redăm datele lui E. I. Kvasikov (118), (119), cu privire la interrelaţiile dintre bacteriile lactice şi drojdii.

Kvasikov a arătat că anumite specii de *Saccharomyces* şi lactobacili sînt adaptate de mult timp la acelaşi mediu, datorită, pe de o parte, afinităţii lor pentru substanţe nutritive apropiate şi pe de altă parte, în urma îndelungatei lor cultivări de către om pentru producerea diferitelor băuturi alcoolice şi acide. Datorită acestei convieţuiri de lungă durată s-a creat un anumit echilibru între unele specii de lactobacili şi unele specii de drojdii. Lactobacilii proveniţi din astfel de cul-

Scanned with OKEN Scanner

turi mixte rezistă la concentrații de alcool de 15% în mediul de cultură, iar drojdiile rezistă la acidifierea pronunțată a mediului de către lactobacili. Culturile de lactobacili crescute în astfel de condiții sînt mult mai exigente în privința factorilor de creștere deoarece s-au adaptat la un mediu bogat în factori de creștere sintetizați de către drojdii; ele prezintă în culturi cu alcool o perioadă de creștere de 2—3 ori mai lungă decît în medii lipsite de alcool. Drojdiile crescute în culturi mixte prezintă unele modificări morfologice, sînt mai viguroase și formează o cantitate mai mică de acizi volatili. Autorul a putut modifica în mod artificial, în același sens, diferite rase de lactobacili și de drojdii, prin cultivarea lor repetată în culturi mixte.

Analizînd proprietățile tulpinilor păstrate mai mult timp în culturi pure și ale raselor provenite din culturi mixte, autorul găsește că menținerea în culturi pure a diferitelor rase de drojdie modifică în mod defavorabil proprietățile lor și de aceea preconizează păstrarea lor în culturi mixte cu lactobacili.

Date analoge au fost găsite de M. P. Gibșman (49) cu privire la bacteriile izolate din chefir (bacterii proteolitice, care în mod normal nu pot crește la un pH acid, se adaptează în aceste condiții la cantitățile importante de acizi, formate de streptococii lactici).

Se mai pot da multe exemple cu privire la modificarea proprietăților patogene ale unor bacterii în culturi mixte (formarea de pigmenți, modificarea unor reacții metabolice, apariția de fenomene de hibridare vegetativă etc.), fenomene care sînt adesea mult mai variate decît cele ce apar în cursul interrelațiilor dintre organismele pluricelulare.

Dintre multiplele posibilități de influențare reciprocă a activității microorganismelor ne vom opri numai asupra cîtorva aspecte mai caracteristice.

Multe specii de microorganisme sînt strîns legate între ele prin nutriția lor. Datele cunoscute cu privire la circulația carbonului, azotului, sulfului în natură etc., sînt o dovadă a rolului important pe care îl are acest tip de interrelații.

Între diferitele specii de microorganisme există multiple legături bazate pe nutriția lor. Pe de o parte, multe microorganisme consumă substanțe nutritive mai bogate fără să le utilizeze complet (prin oxidarea lor pînă la CO_2 și H_2O), ci

formează produşi intermediari care se acumulează în mediu ; pe de altă parte, nu există mediu nutritiv, oricît de sărac ar fi, care să nu fie utilizat de anumite specii de microorganisme. Fermenţii hidrolitici ai unor bacterii (protează, amilază etc.) sînt de asemenea deseori mult mai activi decît sistemele care asigură consumul produşilor de degradare ; predominarea proceselor de hidroliză asupra celor de consum poate duce la acumularea unor substanţe nutritive preţioase în mediu (peptone, aminoacizi, monozaharide), care activează creşterea altor microorganisme etc.

Importanţa deosebit de mare a unor microorganisme pentru nutriţia altora a fost arătată prin experienţele lui Winogradski, despre care am mai amintit. Dacă se pun grăunţe de sol pe plăci de silicagel cu anumite surse uşor accesibile de azot şi carbon, se vor dezvolta în primele zile culturi aproape pure ale unor bacterii bine adaptate la substanţele nutritive respective, apoi vor apărea alte bacterii, care înlocuiesc pe primele şi care utilizează produsele de metabolism ale acestora. În cazul cînd se pleacă de la substanţe nutritive bogate, se poate observa alternarea repetată a bacteriilor pe placă, formele eterotrofe fiind înlocuite prin forme tot mai autotrofe.

Bacteriile carbo-, amino- şi auxoautotrofe îmbogăţesc la rîndul lor mediul în substanţe mai complexe, care asigură creşterea unor bacterii eterotrofe. *Azotobacter*, de exemplu, creşte foarte bogat în culturi mixte cu bacterii celulozice (193) care degradează celuloza inaccesibilă *Azotobacter*-ului, formînd acizi graşi, care la rîndul lor sînt oxidaţi de către *Azotobacter* pînă la CO_2 şi H_2O. Legătura dintre *Azotobacter* şi bacteriile celulozice nu se rezumă însă numai la interrelaţii de nutriţie, ci prin utilizarea metaboliţilor acizi, prin oxidarea acizilor organici, *Azotobacter* creează şi condiţiile optime de pH, pentru dezvoltarea bacteriilor celulozice. Legături la fel de strînse s-au găsit şi între *Azotobacter* şi *B. radiobacter*. *Radiobacter* reduce uşor nitraţii şi nitriţii mai greu accesibili *Azotobacter*-ului, iar acesta asigură pe medii sărace nutriţia *Radiobacter*-ului prin fixarea azotului atmosferic. Acest fapt explică şi greutatea izolării unor culturi pure de *Azobacter*. Interrelaţii asemănătoare explică şi greutăţile întîmpinate în izolarea unor nitrificatori şi a altor autotrofi (p. 55).

Scanned with OKEN Scanner

Vitaminele secretate în mediu de multe specii de microorganisme pot influența și ele creșterea altor specii de microorganisme. În afară de relațiile care apar datorită utilizării de către unele microorganisme a vitaminelor formate de alte specii, pot apărea uneori și fenomene de simbioză, amintite în parte, în care fiecare din parteneri sintetizează vitaminele sau fracțiunile de vitamine care lipsesc celuilalt. Unele specii de *Polyporus*, de exemplu, pot sintetiza vitaminele din fracțiunea $Bios_2$, și altele numai pe cele din $Bios_1$ și $Bios_3$; în cultură mixtă aceste specii se pot completa reciproc. *Streptothrix corallinus* este activat de factorii de creștere produși de meningococi. *Nematospora gossypii* necesită un aport de biotină și sintetizează tiamina, pe cînd *Polyporus adustus* sintetizează biotina și are nevoie de tiamină. Date analoge s-au găsit și la alte specii de microorganisme, în majoritatea cazurilor însă are loc numai consumul de către auxoeterotrofi a vitaminelor sintetizate de auxoautotrofi.

Activitatea favorizantă a unor bacterii asupra creșterii altor specii bacteriene a găsit și o aplicare practică, în ușurarea creșterii unor specii care se dezvoltă mai greu, ca și în regenerarea formelor filtrabile de microorganisme, prin utilizarea „microorganismelor doică". În acest scop se utilizează mai ales sarcine și stafilococi. Natura influenței acestor organisme asupra creșterii altor specii este mai complexă și depinde și de condițiile de cultură (sarcina favorizează creșterea culturilor de brucelle pe mediu solid și o inhibă pe mediu nutritiv lichid). Acțiunea favorizantă a „microorganismelor doică" nu constă numai într-un aport de substanțe nutritive și factori de creștere, dar și în hidroliza parțială a unor componente mai greu accesibile ale mediului de cultură (K a l i n a).

Un aspect important al interrelațiilor dintre microorganisme, căruia i se acordă o atenție crescîndă mai ales din ultimul deceniu, este cel al relațiilor antagoniste dintre microorganisme.

Existența unor relații antagoniste între diferite specii de microorganisme se cunoaște încă din timpul lui P a s t e u r, care a propus utilizarea unor microorganisme antagoniste în lupta împotriva antraxului. Ulterior s-au găsit astfel de relații între multe microorganisme (*B. putida* față de Stafilococul auriu, B. tific și *B. mucosum*, *Pseudomonas pyocyanea* față de B. tific și V. holeric, *Pseudomonas fluorescens* față de B. tific, B. căr-

bunos și V. holeric, *B. prodigiosum* și Stafilococul auriu etc.). Prima substanță cu acțiune antibacteriană, piocianaza, a fost semnalată în 1899.

Dintre microbiologii care s-au ocupat de relațiile antagoniste dintre microorganisme găsim nume ca al lui Mecinikov, Babeș, Gamaleia ș. a., care au arătat importanța teoretică și practică a acestui fenomen. Majoritatea cercetărilor din acea vreme nu au avut însă consecințe practice mai importante, din cauza lipsei unor cunoștințe mai temeinice a naturii chimice a substanțelor produse de microorganismele antagoniste și a fiziologiei acestora.

Importanța studiului relațiilor antagoniste nu constă numai în explicarea genezei unor antibiotice folosite în medicină ca penicilina, streptomicina, aureomicina, gramicidina etc., dar și în faptul că ele au un rol deosebit de mare în viața microorganismelor, marea majoritate a acestora elaborînd arme de atac sau de apărare pentru a putea supraviețui în condițiile naturale de viață.

În natură există relativ puține specii de microorganisme care se hrănesc în mod obișnuit cu alte microorganisme. Printre puținele specii „carnivore" cunoscute, mai mult studiate au fost mixomicetele bacteriotrofe. Imșeneț ki (76) a găsit că *Myxococcus verescens* omoară în prealabil și digeră apoi diferite specii de microorganisme (stafilococi, sarcine, *Azotobacter* etc. El a găsit că activitatea acestei bacterii apare numai pe medii solide, omorîrea bacteriilor avînd loc numai după contactul lor direct cu mixomicetul. După omorîrea bacteriilor are loc liza lor cu ajutorul unor fermenți proteolitici și digerarea lor. Astfel de cazuri de bacteriotrofism sînt însă rare, de obicei se produce numai oprirea creșterii sau omorîrea microorganismelor concurente, fără ca acestea să aibă un rol mai important în nutriția microorganismului respectiv (cu excepția protozoarelor).

Dată fiind marea varietate a tipului de metabolism al diferitelor specii de microorganisme, forma antagonismului lor față de speciile concurente prezintă de asemenea deosebiri foarte mari.

Unele specii de microorganisme se apără împotriva concurenților prin producerea de alcool etilic, butiric, propilic etc., altele prin producere de acetonă, acid lactic, butiric, oxalic etc. Amoniacul produs în urma hidrolizei ureei de către diferitele

Scanned with OKEN Scanner

specii de urobacterii are probabil, pe lîngă un rol energetic, în primul rînd un rol de apărare. Producerea acestor substanțe în cantitate mare reprezintă adaptarea unor reacții metabolice normale, la funcția de apărare împotriva concurenților naturali ai speciilor respective. Producerea acestor substanțe creează avantaje mari speciilor respective, cu toate că acumularea de metaboliți intermediari în mediu înseamnă o utilizare mai puțin rațională a substanțelor nutritive decît oxidarea lor pînă la bioxid de carbon și apă. Acumularea de produse de metabolism nocive pentru alte specii de microorganisme poate varia în funcție de vîrsta culturii și de condițiile ei de nutriție. La bacteriile acetonobutirice, de exemplu, culturile tinere produc metaboliți acizi care sînt apoi consumați de culturile mai bătrîne, care formează mai ales acetonă și butanol. Trecerea de la prima fază a metabolismului la cea de a doua fază nu depinde numai de vîrsta culturii, ci și de hrana ei azotată.

Pe lîngă activitatea antagonistă oarecum nespecifică, prin acumularea de produși ai metabolismului intermediar, care au o acțiune relativ redusă împotriva altor specii de microorganisme, s-au găsit la multe specii de microorganisme foarte deosebite, produși specifici (antibiotice) cu o activitate biologică pronunțată.

Nu ne vom opri asupra naturii antibioticelor, asupra modului lor de acțiune și a importanței lor în medicina umană și veterinară, ca și în agricultură, acest lucru depășind cu mult cadrul acestei lucrări. Amintim numai că multe antibiotice sînt de natură polipeptidică (streptomicina, gramicidinele, polimixinele, eniantina, bacitracina etc.), iar altele posedă nuclee complexe ciclice sau eterociclice. La unele microorganisme (B. piocianic, *B. prodigiosum)*, substanțele active sînt pigmenți, iar la altele par a fi de natură proteică. Dată fiind natura foarte diferită a substanțelor antibiotice secretate de microorganisme, nu s-a putut ajunge încă la o teorie generală asupra naturii antibioticelor sau a modului lor de acțiune. Trebuie să remarcăm însă, că ele acționează deseori numai asupra unor grupe delimitate de microorganisme, exceptînd poate antibioticele de tipul tirotricinei și a gramicidinei, a căror activitate seamănă mai curînd cu cea a antisepticelor (165) și că în componența lor intră deseori derivați optici ai aminoacizilor sau alți derivați ai unor compuși naturali, care nu se întîlnesc în alte produse ale activității vitale a bacteriilor (44), (47).

Scanned with OKEN Scanner

Prezența acestor derivați în compoziția multor antibiotice indică și ea natura și activitatea specifică a antibioticelor, permițind deosebirea lor de metaboliții intermediari cu acțiune antibacteriană, de tipul alcoolurilor sau a acizilor organici.

O altă caracteristică a antibioticelor, care le deosebește de metaboliții intermediari banali, constă în faptul că în marea lor majoritate ele sînt active în concentrații extrem de mici, în doze de miimi de miligrame. În felul acesta, ele nu pot avea o acțiune nespecifică, în sensul unei denaturări a proteinelor sau al înlocuirii unor metaboliți intermediari, ci intervin mai ales prin modificări ale reacțiilor catalitice (1), (46), (126), (204). Aceste reacții pot fi uneori ușor înlocuite prin alte mecanisme analoge, ceea ce explică apariția frecventă a fenomenelor de rezistență la antibiotice. Substanțe cu activitate antibiotică sînt produse de un număr foarte mare de microorganisme. După Krasilnikov (102), 40% din actinomicete produc substanțe cu activitate antibiotică. Substanțe cu acțiune antibiotică sînt produse de către mulți bacili sporulați (*B. subtilis, B. cereus, B. megatherium,* B. mezenteric, *B. mycoides, B. brevis, B. polymixa* etc. și de multe bacterii din grupul *Pseudomonas,* în special de cele din rizosfera plantelor. Multe ciuperci din genurile *Aspergillus,* Penicillii etc. elaborează și ele substanțe active împotriva unui număr mare de microorganisme.

La fel de variate ca mijloacele de inhibiție îndreptate împotriva speciilor concurente sînt și mijloacele de apărare elaborate de diferitele specii de microorganisme în cursul evoluției lor filogenetice. Unul din mijloacele de apărare întîlnit în mod frecvent este pigmentarea. După cum a arătat Imșenețki, bacteriile pigmentate sînt mai rezistente împotriva protozoarelor decît cele nepigmentate. Nadson a găsit că la unele specii de *Penicillium* pigmentul are un rol de apărare. *Pseudomonas fluorescens,* care este antagonist față de un număr mare de bacterii (B. cărbunos, B. tific, *B. proteus* etc.) nu are nici o activitate față de multe bacterii pigmentate.

Unii metaboliți care există în mod normal în mediul de cultură al unui număr mare de bacterii (acidul piruvic sau acidul fumaric de exemplu) inhibă activitatea multor antibiotice. Krasilnikov a arătat, de exemplu, că activitatea micetinei este inhibată de lichidul de cultură al *B. proteus, Ps. pyocyanea, B. liquefaciens* și *Mycobacterium album,* iar aspergilina este inhibată, în afară de lichidul de cultură al aces-

tor bacterii, şi de lichidul de cultură al *Ps. fluorescens*. Această inhibare a activităţii antibioticelor poate avea şi o importanţă indirectă, în sensul apărării altor bacterii impotriva activităţii antibioticului. Experienţele lui Krasilnikov au arătat că Stafilococul auriu poate fi apărat de acţiunea micetinei şi a aspergilinei cu ajutorul lichidului de cultură al specilor amintite. Apariţia multora dintre aceste substanţe inactivante poate fi considerată ca un mijloc de apărare elaborat adaptativ împotriva acţiunii antibioticelor speciilor concurente (47).

Dintre substanţele active care apără microorganismele împotriva unor antibiotice, cea mai bine studiată este enzima penicilinaza, care apără multe specii rezistente la penicilină de acţiunea acesteia. Totuşi, penicilinaza nu este singurul mijloc de apărare împotriva penicilinei ; unele specii de bacterii sînt rezistente la penicilină fără să secrete penicilinază, iar rezistenţa dobîndită la penicilină nu este întovărăşită totdeauna de o producere de penicilinază.

Studiul relaţiilor antagoniste dintre microorganisme a ridicat şi o serie de probleme teoretice, strîns legate de unele probleme centrale ale biologiei.

Una din problemele cele mal importante puse de aceste cercetări este cea a naturii adaptative a antibioticelor. O a doua problemă, strîns legată de prima, este cea a rolului antibioticelor în mediul natural al producătorilor de antibiotice.

Chiar în momentul descoperirii acţiunii antibacteriene a unor antibiotice ca penicilina sau streptomicina, s-au ridicat diferite obiecţii împotriva rolului lor specific ca mijloace de apărare împotriva speciilor concurente.

Desigur că în condiţii naturale nici Stafilococul auriu nu este un concurent pentru *Penicillium notatum* sau *crysogenum* şi nici B. tuberculos pentru *Streptomyces griseus*. Această problemă nu se poate rezolva însă într-un mod atît de simplist, ci trebuie să se ia în consideraţie că prin înrudirea lor filogenetică şi prin faptul că posedă componente sau procese metabolice asemănătoare, multe microorganisme, care fac parte uneori din specii foarte îndepărtate, pot fi atacate de aceleaşi antibiotice. Bacteriile Gram-pozitive, de exemplu, posedă toate pe suprafaţa lor ribonucleat de Mg, acumulează aminoacizi din mediul de cultură, posedă o anumită compoziţie în lipide a suprafeţei lor etc. Toate aceste proprietăţi comune fac ca multe antibiotice să poată acţiona împotriva unui număr mare

Scanned with OKEN Scanner

de bacterii Gram-pozitive și să fie inactive față de bacteriile Gram-negative. Unele antibiotice intervin în procesele de fosforulare (aureomicina), în ciclul acizilor tricarbonici (streptomicina), în metabolismul acidului ribonucleic (penicilina, streptomicina) sau în alte reacții metabolice care decurg probabil în mod asemănător la microorganisme diferite. În cazul antibioticului antimicină, de exemplu, care este activ aproape numai față de ciuperci chiar în diluția de 1 : 800 000 000 și inactiv față de bacterii, s-a găsit că activitatea sa se datorește inactivării fermentului fumarază, care există la toate organismele vii ; deosebirile între ciuperci și bacterii se datoresc permeabilității diferite a membranelor lor față de acest antibiotic. Dacă în acest caz se poate presupune o acțiune specifică apărută adaptativ împotriva unor concurenți naturali (diferite specii de ciuperci) acțiunea foarte pronunțată și strict specifică a aceluiași antibiotic față de anumite insecte se poate explica numai prin permeabilitatea intestinului lor și nicidecum ca o alaptare a ciupercii împotriva insectelor respective. În felul acesta se poate explica de ce anumite substanțe antibiotice, îndreptate inițial în mod specific împotriva unor concurenți naturali, pot fi active și împotriva altor specii.

Deși nu se poate nega faptul că uneori substanțe cu un alt rol în metabolismul bacterian sau produșii finali ai metabolismului bacterian, cum sînt unii pigmenți, pot avea și o activitate antibiotică, în majoritatea cazurilor ipoteza despre natura adaptativă a antibioticelor pare mult mai probabilă.

Studiul unor specii producătoare de antibiotice a arătat că în condiții naturale antibioticele sînt îndreptate mai ales împotriva speciilor concurente. Practica izolării de culturi producătoare de antibiotice a arătat că astfel de specii se găsesc mult mai frecvent pe medii naturale bogate în substanțe nutritive (bălegar, sol bogat în substanțe organice etc.), unde concurența între diferitele specii este deosebit de puternică. Numărul mare de specii de Actinomicete antagoniste a fost explicat prin înmulțirea lor relativ înceată în comparație cu cea a bacteriilor, elaborarea de antibiotice compensînd în parte această deficiență. De altfel și faptul că marea majoritate a antibioticelor sînt inactive față de virusurile filtrabile, care nu pot fi concurenți ai ciupercilor și bacteriilor în ceea ce privește sursele de hrană ale acestora, indică de asemenea natura adaptativă a antibioticelor. Faptul că antibioticele apără

Scanned with OKEN Scanner

în special față de concurenții naturali a determinat pe G. F. Gauze (45) ș. a. să propună, pentru căutarea unor specii de producători de antibiotice, metoda ecologo-geografică, plecînd de la ipoteza că anumite antibiotice se formează numai în anumite biocenoze, unde există atît specia producătoare și concurentul ei natural, cît și anumite condiții ale mediului ambiant.

Datele cele mai concludente în această privință s-au obținut însă în urma încercărilor de reproducere a unor procese de antibioză sub influența unor microorganisme antagoniste.

Primele cercetări în această direcție datează încă din 1911, cînd I. G. Șiller (182) a arătat în laboratorul lui Mecinikov că B. lactic moro lizează streptococul în cazul cînd este cultivat în culturi mixte cu streptococi, lichidul de cultură al populației mixte avînd aceeași acțiune. Lichidul de cultură al B. moro crescut în absența streptococului nu are nici o acțiune asupra acestuia. În urma unor cercetări ulterioare mai amănunțite, Șiller a ajuns la concepția că în condiții corespunzătoare, orice microb poate fi transformat în antagonistul unui alt microb. Cultivînd în culturi mixte pe medii lichide și solide lipsite de substanțe nutritive bacterii peptolitice (streptococi, stafilococi, pneumococi) împreună cu bacterii proteolitice (B. subtilis, B. mezenteric ș.a.), autorul a observat că bacteriile proteolitice lizează pe cele peptolitice, utilizîndu-le ca sursă de hrană. Liza bacteriilor peptolitice nu se datorește activității proteolitice a bacteriilor respective, ci secretării unor substanțe specifice termolabile, care trec în mediul de cultură. Mediul pe care au crescut culturi pure de bacterii proteolitice, ca și enzimele proteolitice secretate de acestea în urma creșterii pe medii cu proteine, nu au nici un fel de acțiune asupra bacteriilor peptolitice.

Date analoge au fost obținute și în urma cultivării simultane a unor drojdii cu diferite specii de bacterii. În medii lipsite de azot, conținînd 1—2% zaharoză sau glucoză, se poate observa în culturi mixte lizarea de către drojdii a unor bacterii ca stafilococul, streptococul sau B. tuberculos, care sînt utilizate ca sursă de azot. Și în acest caz, lichidul de cultură adăugat la culturile pure ale bacteriilor respective inhibă creșterea acestora. Dacă se cultivă însă aceleași culturi mixte pe ser fiziologic lipsit de zaharuri, raporturile antagoniste dintre drojdii și bacterii se inversează, bacteriile fiind acelea care li-

Scanned with OKEN Scanner

zează celulele de drojdie. În aceste condiții se obțin culturi mai bogate de B. tuberculos, de exemplu, decît în urma cultivării sale pe medii uzuale.

Activitatea substanțelor antibacteriene apărute în culturi mixte este destul de specifică. Substanțele active față de streptococ prezintă o activitate slabă față de pneumococi și sînt inactive față de stafilococi.

Fenomene de antagonism indus au fost observate de autor și pe medii nutritive mai bogate (activitatea antagonistă a *B. moro* și *B. bifidus*). Șiller a arătat că se pot obține date analoge și *in vivo*. Printr-o nutriție bogată în lactoză și dextrină, care favorizează creșterea *B. bifidus*, el a reușit să elimine celelalte bacterii din intestinul gros, realizînd la indivizii adulți o flora bacteriană analogă cu cea a sugarilor. Șiller a arătat că eliminarea celorlalte specii bacteriene din intestin nu se datorește producerii de acizi, ci numai creării unor condiții favorabile, în care *B. bifidus* își poate exercita activitatea antibacteriană.

Date analoge au fost găsite de diferiți cercetători și la alte microorganisme. Astfel, *B. vulgatus* lizează capsula *B. friedländer*; *E. coli* inhibă în culturi mixte *B. subtilis* și B. tific etc. S-au mai descris fenomene de antagonism indus între *B. subtilis* și B. tuberculos, *E. coli* și B. cărbunos etc. Antagonismul indus dintre unii pneumococi și cocobacilul pestei pare să fie important în unele forme de pestă pulmonară.

Dintre experiențele făcute în ultimul timp în această direcție, o atenție deosebită merită lucrările lui M. O. Streșinski (190), (192), care a cultivat în culturi mixte *B. subtilis* și *Penicilllium notatum*. Spre deosebire de experiențele lui Șiller, în care un microorganism se dezvoltă pe seama celuilalt, nici *B. subtilis* nu poate să se dezvolte prin utilizarea exclusivă a miceliului ciupercii și nici ciuperca nu se poate dezvolta prin utilizarea de *B. subtilis*. Însămînțate simultan în medii solide sau lichide, ciuperca inhibă *B. subtilis* prin secretarea de penicilină. Cînd se însămînțează însă *Penicillium* pe un mediu pe care există o cultură bogată de *B. subtilis*, acesta elaborează substanțele care inhibă creșterea ciupercii. Filtratul culturii pure de *B. subtilis* nu are acest efect, în timp ce filtratul culturii mixte are o pronunțată acțiune inhibitoare asupra ciupercii.

Scanned with OKEN Scanner

Studiind un număr mai mare de tulpini de *B. subtilis* izolate din diferite substrate naturale, autorul a observat că un număr mic de tulpini însămînțate pe geloză, simultan cu ciuperca, inhibă creșterea *P. notatum*, pe cînd majoritatea lor sînt inhibate de ea. Punînd însă în contact *Penicillium notatum* cu o cultură bogat crescută de *B. subtilis*, se obțin din o parte din tulpinile inițial sensibile de *B. subtilis*, tulpini rezistente, care izolate și însămînțate apoi pe geloză continuă să inhibe creșterea ciupercii (deci caracterul dobîndit în cultură mixtă a fost transmis și generațiilor ulterioare).

Transmiterea ereditară a antagonismului dobîndit a fost studiată mai amănunțit de A. G. Vasilenko (205) în cazul antagonismului B. mezenteric cu *B. typhi murium*. Autorul a arătat că transmiterea ereditară a antagonismului se obține numai după mai multe treceri ale culturilor mixte, existînd un număr optim de treceri pentru obținerea acestui fenomen.

Fenomene de antagonism indus nu se observă numai la bacterii, ci și la ciupercile producătoare de antibiotice. G. Gilissen (50), (51), a observat fenomene de antagonism indus față de B. tuberculos la unele tulpini producătoare de penicilină. Substanțele îndreptate împotriva B. tuberculos rămîn în mediul de cultură și după extragerea penicilinei, în care caz activitatea filtratului împotriva Stafilococului auriu dispare.

Gratia a încercat să utilizeze în practică fenomenul de liză specifică, obținut cu ajutorul culturii mixte a unei bacterii patogene cu o altă bacterie cu acțiune inhibitoare și a obținut unele succese în această privință. Între încercările făcute în acest sens trebuie amintite și lucrările lui Șiller cu privire la tratamentul unor pulpite și paradentoze.

Principiul antagonismului indus a stat și la baza căutării unei tulpini active, producătoare de antibiotice. Bazîndu-se pe acest principiu, Dubos a îmbogățit probe de sol timp îndelungat cu bacterii Gram-pozitive, reușind să izoleze pînă la urmă *B. brevis* cu proprietăți antagoniste deosebit de pronunțate.

Experiențele de antagonism indus arată în mod net natura adaptativă a multor substanțe cu proprietăți antibiotice, ca și faptul că în unele condiții secretarea de substanțe antagoniste poate deveni ereditară.

A doua problemă importantă pusă de relațiile antagoniste dintre microorganisme este cea a posibilităților de aplicare, în condițiile mediului natural, a datelor găsite în experiențe de la-

Scanned with OKEN Scanner

borator, adică problema rolului substanțelor antibiotice în natură.

S-a observat că în sol sau în apă, multe bacterii patogene eliminate din organism mor după scurt timp. B. tific, de exemplu, rezistă în apă de canal sterilizată timp de 20—50 de zile, iar în apă de canal nesterilizată nu rezistă decît 1—4 zile. Cantitatea de stafilococi piogeni introdusă în apa de mare scade de 2—3 ori după 10 zile ; introduși în aceeași apă sterilizată, numărul lor crește de la 800 la 4 200 pe cm^3 (Krasilnikov). Formele de *E. coli* provenite din intestin rezistă de asemenea numai un timp redus în apa nesterilă (în afară de *E. coli anindolicum*, care se izolează frecvent din diferite probe de ape). Date analoge s-au găsit și cu privire la bacteriile patogene introduse în sol, unde în mod natural există numai un număr limitat de specii patogene (B. tetanic, B. cărbunos, *B. perfrigens* etc.). În aceste cazuri, pe lîngă condițiile de nutriție defavorabile și alți factori inhibitori ai dezvoltării acestor bacterii, intervine și activitatea antibioticelor produse de alte specii de microorganisme.

Totuși majoritatea antibioticelor nu pot fi obținute din microorganismele care se dezvoltă în sol în forma în care se obțin din culturi artificiale [1]). Pe de o parte, speciile producătoare de antibiotice formează de obicei un număr mai mare de antibiotice, a căror proporție și chiar compoziție poate varia în funcție de condițiile mediului. Pe de altă parte, substanțele pătrunse în sol sînt modificate de produsele activității vitale a altor organisme și sînt absorbite de particulele din sol. Uneori se poate observa o acțiune de activare a unor antibiotice de către alte microorganisme. S-a găsit astfel o bacterie, ale cărei produse (fără să aibă ele însile o acțiune antibiotică) întăresc mult acțiunea streptomicinei, însă de cele mai multe ori are loc o inactivare a antibioticelor. S-a găsit că 1 g de extract de sol poate inactiva 10—100 000 U. streptomicină. Puterea de inactivare a solului depinde mult de speciile de plante cu care este cultivat, ca și de natura solului. Mai intervin și modificările antibioticelor, cauzate de combinarea lor cu diferitele substanțe din sol.

---

[1]) Unele antibiotice pot rămîne mult timp nemodificate în sol. Patulina, de exemplu, produsă de *Penicillium patulum*, se inactivează în sol numai în decurs de cîteva săptămîni.

Lipsa în sol a multor antibiotice, în formele în care se obțin pe mediile nutritive artificiale, inactivarea rapidă a lor în sol, ca și faptul că în sol există multe microorganisme neantagoniste, care se dezvoltă la fel de bine ca și cele antagoniste, îl determină pe S. Waksman (207) să nege importanța biologică a antibioticelor ca mijloc de apărare a microorganismelor în condiții naturale de viață.

Această concepție a lui Waksman a fost criticată de N. A. Krasilnikov (103), care a arătat că de fapt numărul speciilor producătoare de antibiotice este mult mai mare, dat fiind că multe microorganisme produc antibiotice numai în contact cu speciile concurente, iar la altele producerea de antibiotice nu s-a putut testa, fie din cauză că nu s-au găsit încă condițiile necesare pentru a putea obține producerea lor pe medii artificiale, fie că spectrul lor antibacterian mai restrîns nu permite decelarea lor cu microorganismele-test, care se utilizează în mod obișnuit (*E. coli*, Stafilococ auriu, *B. mycoides* etc.).

În ceea ce privește inactivarea substanțelor antibiotice din sol, Krasilnikov a arătat următoarele : în mediul lor natural, microorganismele din aceeași specie nu trăiesc în mod izolat, ci formează microcolonii. În sol, aceste populații formate aproape exclusiv dintr-o singură specie, ocupă unul sau mai mulți pori, spațiu în care nu pot pătrunde microorganisme concurente din alte specii. Antibioticele elaborate de microorganismele din aceste microcolonii sînt active numai în acest spațiu restrîns și sînt repede modificate în afara spațiilor capilare din sol [1]).

Practica agricolă a arătat și ea importanța biologică a producerii de antibiotice în condițiile solului.

Multe specii fitopatogene sînt repede eliminate din sol, eliminarea lor depinzînd de prezența unor microorganisme antagoniste. *B. armenica* dispare din unele soluri după 6—8 zile, *B. citri* în 6—40 de zile etc.; în sol nu rezistă decît pentru scurt timp specii fitopatogene ca *B. tabacum*, *Ps. malvacearum*, *B. amylovorus* ș. a. (Gorolenko). După datele lui Krasilnikov, în sol există un număr mare de microorganisme antagoniste și 20 000—500 000 bacterii sporulate antagoniste pe g de sol. Kasilnikov a arătat că în solurile în care se introduc în

[1]) Cercetări recente au arătat răspîndirea microorganismelor din sol sub forma de microcolonii izolate, ceea ce vine în sprijinul concepțiilor lui Krasilnikov.

mod artificial microbi antagonişti, dezvoltarea unor ciuperci fitopatogene ca *Fusarium, Helminthosporium, Rizoctonia* ş. a. este oprită.

Afrikian a arătat că însămînţînd în sol steril *Azobacter* sau *B. mycoides* împreună cu *B. mezentericus,* acesta din urmă inhibă creşterea primilor. Studiul unor probe de sol luate din diferite regiuni ale Uniunii Sovietice a arătat că în solurile în care *B. mezentericus* se găseşte în cantitate mai mare aceasta inhibă dezvoltarea *Azotobacter*-ului şi a *B. mycoides.*

Acţiunea antagonistă a unor specii de microorganisme faţă de unele microorganisme patogene este astăzi întrebuinţată pe o scară tot mai largă, în agricultură (Nahimovskaia, N. A. Krasilnikov, R. O. Mirzabekian (150) G. N. Kublanovskaia (112), K. H. Wallhäuser (208) ş.a.).

Introducerea de antibiotice în sol este ineficace, din cauza inactivării lor rapide. Antibioticele se întrebuinţează însă pe o scară tot mai largă pentru tratarea seminţelor şi a plantelor bolnave.

Interrelaţiile antagoniste dintre microorganisme în mediul lor natural sînt importante şi pentru starea de sănătate a organismului animal. L. H. Peretz şi alţi autori consideră că activitatea antagonistă a *E. coli* faţă de B. tific poate influenţa evoluţia febrei tifoide. În multe cazuri de dizenterie s-au găsit un număr mare de tulpini antagoniste faţă de B. dizenteric. Streptococii din faringe au uneori o acţiune de inhibare a B. difteric, fără să influenţeze însă activitatea toxinei sale. Bacteriile care se dezvoltă în mod obişnuit pe suprafaţa pielii prezintă o acţiune antagonistă faţă de cele care ajung incidental pe piele etc. Evoluţia diferită a infecţiilor mixte, arătată pentru prima oară de V. Babeş (7), a fost şi ea confirmată de un număr mare de cercetări.

Cunoaşterea relaţiilor antagoniste ale microorganismelor în organismul uman a determinat pe mulţi cercetători, începînd cu Mecinikov, să utilizeze aceste interrelaţii în scopuri terapeutice. Dintre încercările în acest sens, amintim numai pe cele ale lui L. H. Peretz (164), care a încercat să utilizeze antagonismul *E coli* — B. tific pentru tratamentul febrei tifoide cu ajutorul unor tulpini de *E. coli* deosebit de active. Datorită interrelaţiilor complexe care există în cavităţile naturale ale organismului şi influenţei continui a macroorganismului asupra florei bacteriene din organism, încercările de acest fel au avut în majoritatea cazurilor numai un succes limitat.

Scanned with OKEN Scanner

În concluzie, putem afirma că faptele găsite de un număr mare de microbiologi au arătat importanța biologică a multor antibiotice, ca și natura lor adaptativă. Analiza biologică a fenomenelor de antagonism microbian nu are însă numai o importanță teoretică, ci și una practică în înțelegerea evoluției unor procese infecțioase și în lupta împotriva speciilor dăunătoare de microorganisme, în special în condițiile solului.

Interrelațiile complexe între microorganisme, în condiții naturale de viață, nu se pot însă reduce numai la relații de activare sau antagonism. Intervin și modificări ale activității vitale, care nu pot fi încadrate în nici una din categoriile de mai sus, modificări ale reacțiilor metabolice (amintite în parte la începutul acestui capitol), modificări de pigmentație, modificări morfologice etc. În afară de aceasta, interelațiile dintre microorganisme nu le privesc niciodată în mod exclusiv numai pe ele, ci în mod continuu intervine acțiunea faunei și a florei, ca și influența modificărilor substratului nutritiv.

Aceste fapte arată că toate datele găsite la culturi pure de bacterii crescute pe medii artificiale trebuie comparate în mod obligator cu fenomenele ce se petrec în mediul lor natural, altfel ele riscă să rămînă artefacte, cu o semnificație biologică redusă.

CAPITOLUL V

ADAPTĂRI TEMPORARE LA MODIFICĂRILE MEDIULUI

Mediul ambiant al fiecărui organism viu este într-o continuă schimbare. Substanțele nutritive din mediu se modifică, în privința cantității și compoziției lor, sub acțiunea unor factori fizici sau chimici din mediu, sub influența altor organisme vii, care le modifică sau le consumă, și chiar sub influența activității vitale a individului respectiv. Acestor modificări, deseori de scurtă durată, ale mediului ambiant, organismul le răspunde fie prin modificarea eredității sale (atunci cînd modificările durează mai mult timp și există obligația de a se adapta la factori care nu corespund cerințelor naturale ale organismului), fie prin modificări temporare, cînd organismul se poate adapta la noile condiții, fără să-și modifice ereditatea. Existența adaptărilor temporare a fost explicată de Lîsenko prin acea că un individ

nu realizează niciodată toate posibilitățile sale ereditare. De multe ori este însă foarte greu de a găsi limitele precise dintre modificările ereditare și cele neereditare. Unele modificări adaptative în funcție de mediu sînt considerate deseori neereditare, fie datorită unui studiu insuficient al urmașilor, fie că s-a acționat un interval de timp prea scurt și nu s-au găsit metode corespunzătoare pentru zdruncinarea eredității.

Modificările adaptative temporare sînt de o importanță deosebită pentru toate organismele vii, posibilitățile acestora de supraviețuire în mediul natural fiind într-o bună măsură în funcție de capacitățile lor de adaptare.

Noțiunea de „vitalitate" elaborată de Lîsenko este strins legată de analiza capacității de adaptare la mediu, capacitatea de adaptare fiind crescută la indivizii proveniți din fecundare încrucișată sau la cei care provin de la înaintași care au trăit alternativ în condiții de mediu diferite.

Felul în care vor decurge adaptările la modificările mediului vor depinde de tipul de metabolism al speciei respective, de vîrsta individului, de prezența altor factori în mediu ș. a. m. d.

La animalele superioare, adaptările la modificări temporare ale mediului se fac pe alte căi decît la microorganisme, mai ales prin intermediul sistemului nervos central. Analiza strălucită a adaptărilor temporare din regnul animal făcută de I. P. Pavlov și elevii săi nu servește însă numai pentru înțelegerea relațiilor animalelor superioare cu mediul ambiant, ci are și o valoare biologică generală. Ea arată importanța legăturilor temporare cu mediul și căile de urmat pentru înțelegerea mecanismului lor (ținînd desigur seama de tipul de metabolism al speciilor respective).

La microorganisme, adaptarea față de modificările temporare ale mediului ambiant se face mai ales prin modificarea echipamentului enzimatic ; frecvent se întîlnesc însă și modificări concomitente ale compoziției chimice, de permeabilitate a pereților celulari, de structură internă, de morfologie celulară etc.

Acest tip de modificări în funcție de mediu nu este însă caracteristic numai microorganismelor. I. P. Pavlov a observat la animale modificări în compoziția și activitatea fermentativă a salivei și a sucului gastric în funcție de hrană. S-a descris apariția în umorile animalelor și ale omului a unor fermenți de apărare (Abderhalden) față de substanțe foarte diferite, a căror specificitate întrece uneori pe cea a reacțiilor serologice.

La plante, Rubin (174), Sisakian şi alţi cercetători au descris modificări adînci ale metabolismului, în funcţie de modificări temporare ale mediului. Aceste modificări privesc relaţia dintre activitatea de sinteză şi de hidroliză, transportul substanţelor nutritive, intensitatea transpiraţiei etc.

Ceea ce deosebeşte însă microorganismele de organismele pluricelulare, şi în special de animalele superioare, este faptul că răspunsul lor la modificările temporare ale mediului nu se face prin sisteme de relaţie compuse din celule specializate sau prin modificări de activitate enzimatică reglate de sisteme de reglare supracelulare, ci prin modificări ale întregului metabolism celular. Dacă în cursul adaptării la mediu pH-ul intern, temperatura sau potenţialul de oxido-reducere din interiorul ţesuturilor animale rămîn aproape neschimbate, la microorganisme întîlnim deseori modificări temporare ale întregului metabolism.

Cît de profunde pot fi uneori modificările temporare ale metabolismului microorganismelor în funcţie de mediu, ne arată datele din tabloul nr. 8, privind compoziţia chimică a *E. coli* crescut pe 7 medii nutritive, relativ puţin diferite (Dawson).

Tabloul nr. 8

Modificarea compoziţiei chimice a *E. coli* în funcţie de mediu

Componenţa %	Mediul de cultură							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Apă şi substanţe volatile	74,84	72,5	60,25	75,01	74,09	60,69	60,32	79,55
Cenuşă	4,8	2,7	4,5	4,5	4,5	7,83	7,69	2,1
P_2O_5	4,24	3,48	2,38	2,89	3,30	1,69	1,83	0,92
Azot total	2,84	3,02	6,22	2,40	2,11	4,32	5,00	5,02
Azot aminic	0,77	0,89	2,97	0,72	0,69	1,69	1,65	3,01
Grăsimi	3,99	4,32	4,82	5,77	8,00	—	—	5,07
Hidraţi de carbon	4,00	3,10	2,19	1,38	2,69	3,11	2,88	4,00

Dintre diferitele modificări temporare, în funcţie de mediu, ale microorganismelor, cel mai bine au fost studiate enzimele adaptative (109), (38), (86), enzime care apar în urma introducerii unor substanţe nutritive noi în mediu, sau ca o reacţie de apărare împotriva anumitor modificări defavorabile ale mediului.

Termenul de enzimă adaptativă a fost introdus de Kars-

trö m. El împarte enzimele microorganismelor în două categorii: enzime adaptative, a căror apariție este determinată de existența substratului specific în mediu și enzime constitutive, care apar independent de existența substratului specific în mediu. Ca exemplu de enzimă constituită, Karström descrie zaharaza la drojdii, care în experiențele lui Zikes a rămas activă și după o cultivare timp de 14 ani în medii lipsite de zaharoză ; ca exemplu de enzimă adaptativă, el dă apariția maltazei la *E. coli*, care apare numai în urma creșterii bacteriei pe medii cu maltoză, și absența sa la bacteriile crescute pe medii cu zaharoză sau lactoză.

Atît cercetările lui Karström, cît și cele ale altor cercetători, au arătat că împărțirea în enzime constitutive și adaptative este deseori arbitrară. Activitatea enzimelor constitutive depinde și ea într-o bună măsură de prezența substratului specific în mediul ambiant. Glucozimaza, o enzimă (sau mai exact un complex de enzime) constitutivă a lui *E. coli* prezintă o activitate dublă în prezența glucozei, față de activitatea ei pe medii lipsite de glucoză. În prezența substratului specific, activitatea galactozimazei, care este considerată ca o enzimă adaptativă, crește cu mai mult de 50 de ori. În același timp, activitatea ambelor enzime depinde de gradul de aerare a mediului, de natura substanțelor azotate din mediu, de faptul dacă cultura este crescută pe mediu lichid sau solid etc.

Din cauza variațiilor mari, în funcție de mediu, a activității unor enzime considerate constitutive, Quastel a propus pentru ele denumirea de „semiadaptative".

Dacă mai ținem seamă și de faptul că în urma unei cultivări prelungite pe anumite medii de cultură, enzimele adaptative pot deveni constitutive, atunci deosebirea dintre ele scade și mai mult.

După cum a arătat K. V. Kosikov (95), (99), prin antrenarea drojdiei *Saccharomyces globosus* pe medii nutritive (ca zaharoza), zaharaza, inițial adaptativă, devine după un anumit timp constitutivă. Tulpini astfel modificate, cultivate pe glucoză, își păstrează capacitatea de a fermenta zaharoza. Această proprietate nou dobîndită este strict specifică și nu implică fermentarea și a altor zaharuri, cum ar fi, de exemplu, lactoza.

Cercetările lui I. V. Kudriavțev (113) au arătat și ele că maltaza, o enzimă adaptativă la drojdiile de vin, poate deveni

constitutivă în urma cultivării repetate a acestora pe medii cu maltoză.

Cu toată existența unor treceri continui între enzimele constitutive și adaptative și imposibilitatea de a le deosebi, deseori, în mod absolut, există totuși enzime care nu apar decît în prezența substratului specific și altele, fixate ereditar, care se elaborează și în absența substratului specific.

Cauzele acestor deosebiri pot fi uneori destul de ușor descoperite prin studiul mediului natural al microorganismelor respective.

După cum a arătat K u d r i a v ț e v, în genul *Saccharomyces* răspîndirea enzimelor constitutive și adaptative este strîns legată de mediul natural în care trăiesc diferitele specii, ca și de originea lor filogenetică. Drojdia sălbatică *Saccharomyces paradoxus* trăiește pe medii naturale, pe care se întîlnesc mai ales glucoza și fructoza (ca produși de degradare ai unor polizaharide) și zaharoză. Din această cauză, ele posedă enzime constitutive față de aceste zaharuri. *Saccharomyces cerevisiae*, o specie cultivată de foarte multă vreme mai ales pe amidon și pe produsele de degradare ale acestuia, posedă o maltază constitutivă (maltoza fiind principalul produs de degradare al amidonului). Această proprietate a fost întărită din ce în ce mai mult la drojdia de bere, însă tinde să dispară la drojdia de vin, din al cărui mediu natural lipsește maltoza (la aceasta din urmă, maltaza a devenit o enzimă adaptativă). Totuși, din cauza proveniență din organisme cu o puternică activitate maltazică, adaptarea la maltoză poate fi realizată mult mai ușor la drojdiile de vin, decît la drojdia sălbatică *Saccharomyces paradoxus*.

Saccharomyces cartilaginosus, care se dezvoltă în mod exclusiv pe produse lactate, trăiește în mediul său natural în asociație cu bacterii lactice, care hidrolizează lactoza și consumă din ea numai glucoza. *Saccharomyces cartilaginosus* trăiește astfel în mod constant într-un mediu bogat în galactoză (cea de a doua componentă a lactozei, neutilizată de lactobacili) și din această cauză el are o galactozimază constitutivă, însă nu posedă fermenți cu activitate lactazică.

Din aceleași cauze, glucozimaza este la majoritatea bacteriilor o enzimă constitutivă, glucoza fiind monozaharidul cel mai răspîndit în natură. *B. dizenteric Flexner*, de exemplu, are ca enzime constitutive în afară de glucodehidrază, și enzimele care atacă produsele de degradare ale glucozei (acidul piruvic și aci-

dul lactic). La pentozobacteriile specializate în utilizarea unor pentozane (polizaharizi formați din pentoze), glucozimaza este adaptativă și în schimb sînt constitutive sistemele enzimatice care realizează degradarea pentozelor.

De obicei vor fi constitutive enzimele care atacă substanțele nutritive, care se găsesc frecvent în mediu și a căror prezență are o importanță mare pentru dezvoltarea microorganismului respectiv, și adaptative enzimele active față de substanțe care apar în mod incidental. Dacă factorul care a condiționat apariția enzimei adaptative este prezent pentru un timp mai îndelungat în mediu și capătă o importanță mai mare pentru metabolismul microorganismului respectiv, atunci enzima „adaptativă" poate deveni „constitutivă". Din această cauză, Kosikov (99) a propus pentru aceste două categorii de enzime denumirile de „fermenți fixați ereditar" și „fermenți nefixați ereditar".

În afară de fermenții legați de anumite componente mai mult sau mai puțin stabile ale mediului, mai sînt constitutive și o serie de enzime care participă la procesele de metabolism intermediar (transaminarea, biosinteza proteinelor, ciclul acizilor tricarbonici etc.) și de transport de energie, procese comune majorității organismelor vii.

Posibilitatea de menținere îndelungată a unor enzime constitutive în absența substratului specific, s-ar explica, după Kosikov, prin faptul că aceeași enzimă poate avea uneori mai multe funcțiuni în metabolismul celular (zaharaza, de exemplu, ar putea avea, în afară de hidrolizarea zaharozei, și un rol în sinteza unor di- și polizaharide celulare).

Studiul enzimelor adaptative a permis găsirea unor date importante în ceea ce privește mecanismele de adaptare a microorganismelor la modificările mediului.

După cum am mai amintit, formarea adaptativă de enzime în funcție de apariția unor substanțe nutritive noi în mediu se poate întîlni la toate organismele monocelulare și pluricelulare; ea a fost însă studiată mai bine la mucegaiuri, drojdii și bacterii.

La *Aspergillus niger* s-a descris formarea adaptativă de tanază. Aceeași ciupercă, dacă este crescută pe lactoză, hidrolizează glucozamina și galactozamina, pe cînd dacă este crescută pe glucoză, hidrolizează numai glucozamina. La mucegaiuri s-a mai găsit formarea adaptativă a fermenților pectinază, inulinază, lipază etc.

La alge s-a găsit formarea adaptativă de amilază și zaharază.

La drojdii, și mai ales la bacterii, s-au descris enzime adaptative active față de foarte multe substanțe.

La un număr mare de bacterii (*Betacoccus arabinosaceus, E. coli, Leuconostoc mezenteroides, streptococi, Azotobacter,* diferite specii de *Pseudomonas* etc.) s-au descris enzime adaptative față de diferite mono- și dizaharide.

Ca o ilustrare a multiplelor posibilități de adaptare a bacteriilor la diferite mono- și dizaharide, redăm rezultatele unei experiențe făcute de Karström cu bacteria *Leuconostoc mezenteroides.*

Tabloul nr. 9

Formarea de enzime adaptative față de mono- și dizaharide de către *Leuconostoc mezenteroides*

Crescut în prealabil în mediul care conține %	A fermentat ulterior zaharurile					
	Glucoză Fructoză Manoză	Galactoză	Arabinoză	Zaharoză	Maltoză	Lactoză
Glucoză (2)	+	—	—	—	—	—
Zaharoză (2)	+	—	—	+	—	—
Galactoză (0,8)	+	+	—	+	—	—
Arabinoză (0,8)	+	—	+	+	—	—
Maltoză (2)	+	—	—	+	+	—
Lactoză (1)	+	+	—	+	—	+
Fără zahăr	+	—	—	+	+	—

Din tabloul nr. 9 reiese că fermentarea glucozei și fructozei este constitutivă, cea a zaharozei și maltozei apare pe substratul specific, uneori însă și în cazul creșterii pe alte medii, pe cînd fermentarea lactozei, galactozei și a arabinozei sînt strict adaptative.

Date analoge au fost găsite și în cursul cercetărilor cu privire la formarea de enzime adaptative față de polizaharizi.

S-a stabilit astfel natura adaptativă a hialuronidazei la *Cl. welchii* și stafilococ și a enzimelor care atacă polizaharizii capsulei pneumococilor, apariția unei amilaze adaptative în urma creșterii pe medii cu amidon etc.

Enzimele adaptative care atacă polizaharizii capsulari ai diferitelor tipuri de pneumococi sînt foarte specifice ; pînă acum

s-au izolat enzimele care hidrolizează polizaharizii pneumococilor de tipul I, III, IV, VII și VIII, fără să modifice în același timp alte componente mai importante ale celulei bacteriene. Au mai fost izolate enzimele care atacă polizaharizii din B. dizenteric Shiga, B. tuberculos și polizaharidul din hematiile din grupul A (25).

În afară de enzime adaptative față de diferite zaharuri, s-au găsit și enzime adaptative față de unii produși de degradare ai zaharurilor (acidul succinic, acidul formic etc.).

La fel de variate ca enzimele adaptative apărute în prezența glucidelor, sînt și cele apărute sub influența protidelor și a componentelor lor, aminoacizii.

Natura adaptativă a proteazelor a fost dovedită la *Clostridium histoliticum* (90), ca și la alte bacterii. Este de remarcat faptul că exoproteazele legate în mod nemijlocit de utilizarea proteinelor în mediu prezintă o variabilitate mai mare în funcție de substrat, decît endoproteazele care au probabil un rol important și în sinteza proteinelor celulare.

S-a dovedit natura adaptativă și a unor dehidraze și dezaminaze față de diferiți aminoacizi. La *E coli* s-a găsit că decarboxilazele față de aminoacizii lizină, ornitină, histidină și tirozină sînt de natură adaptativă, spre deosebire de decarboxilaza față de acidul glutamic. Natura neadaptativă a carboxilazei față de acidul glutamic este datorit poate rolului important pe care îl are acest aminoacid în metabolismul intermediar, independent de faptul dacă microorganismul îl primește din mediu sau îl sintetizează din alți compuși celulari.

S-au mai descris enzime adaptative față de triptofan, diferiți compuși aromatici, grăsimi neutre, acizi grași, acizi uronici, compuși anorganici ca nitrați, tetrationați, tiocianați etc.

Această enumerare foarte incompletă a compușilor care pot fi metabolizați cu ajutorul enzimelor adaptative, arată că existența acestora duce la o lărgire apreciabilă a posibilităților de utilizare a diferitelor substanțe nutritive din mediu și deci la o creștere a potențialului biologic al microorganismelor.

Elaborarea enzimelor adaptative nu este însă legată numai de utilizarea unor noi surse de hrană, ci și de adaptarea la modificările pH-ului, ale condițiilor de aerare ale mediului și de posibilitatea de apărare împotriva unor substanțe toxice pentru microorganism.

Scanned with OKEN Scanner

La drojdiile şi bacteriile facultativ anaerobe are loc în condiţii de aerobioză o creştere a cantităţii de citocromi în celulă, ca şi o activare a citocromoxidazei. La un număr mare de bacterii facultativ anaerobe s-a stabilit că în condiţii de anaerobioză are loc o acumulare de porfirine în mediul de cultură (178), porfirine care servesc în condiţii aerobe la sinteza citocromilor.

Enzimele adaptative par să aibă un rol important şi în apărarea bacteriilor împotriva unor metaboliţi toxici. Formarea adaptativă de urează, catalază, alcool-dehidrază şi mai ales hidrogenliaza acidului formic [1]) este maximă la acele valori de pH la care ureea, apa oxigenată, alcoolul etilic şi acidul formic au cea mai mare acţiune toxică asupra celulei bacteriene.

Secretarea de substanţe cu acţiune inhibitoare faţă de unele specii concurente, ca acele descrise de Şiller, pare de asemenea uneori legată de formarea unor enzime adaptative.

Cercetările lui E. F. Gale şi colaboratori (38) au arătat că activitatea decarboxilazelor şi dezaminazelor la *E. coli* şi alte bacterii are un rol important în menţinerea pH-ului optim al mediului de cultură. În mediu acid sînt active decarboxilazele aminoacizilor, ceea ce duce la formarea de amine şi deci la o alcalinizare a mediului de cultură, pe cînd în mediu alcalin, se formează mai mult acizi organici, prin dezaminarea amino-acizilor şi deci o neutralizare a alcalinităţii mediului. Dezaminaza acidului aspartic constituie însă o excepţie în această privinţă, ea fiind la fel de activă la un pH slab alcalin, ca la un pH slab acid. Unii autori consideră că această comportare diferită a dezaminazei acidului aspartic s-ar datora rolului important pe care îl au în metabolismul celular reacţiile de dezaminare şi transaminare ale acestui aminoacid. Cercetările lui L. P. Mardaşev (129) au confirmat datele lui Gale la *E. coli*, arătînd însă în acelaşi timp că la decarboxilazele *B. cadaveris* şi ale pseudomicobacteriilor nu se poate observa un optim de activitate în mediu acid.

Cercetările amintite au lărgit mult cunoştinţele noastre despre rolul biologic al enzimelor adaptative, arătînd că ele nu apar numai în urma unor necesităţi în substanţe nutritive, dar şi în

---

[1]) Hidrogenliaza scindează acidul formic în hidrogen şi bioxid de carbon fără participarea unui acceptor de hidrogen, spre deosebire de dehidrogenaza acidului formic, care necesită un acceptor de hidrogen $H\,COOH + A = CO_2 + H_2A$.

Scanned with OKEN Scanner

cazurile cînd dispariţia unor substanţe din mediu este favorabilă dezvoltării normale a microorganismului respectiv.

O proprietate caracteristică multor enzime adaptative este specificitatea lor. După cum a arătat studiul enzimelor care hidrolizează polizaharidul capsular al pneumococilor, aceste enzime se caracterizează printr-un grad înalt de specificitate faţă de tipul respectiv de pneumococ. Cercetările lui Mirik au arătat şi ele o specificitate destul de pronunţată a enzimelor adaptative faţă de derivaţii orto-, meta- şi para-, ai acidului benzoic. La o specie de *Pseudomonas* s-au găsit enzime adaptative faţă de izomerii l şi d- ai triptofanului, celulele adaptate la izomerul l- consumînd izomerul d- abia după o perioadă mai lungă de adaptare. Date analoge s-au găsit şi în privinţa antipozilor de structură ale altor aminoacizi.

O specificitate destul de pronunţată prezintă fermentul care transformă creatina în creatinină (Dubos şi Miller) şi cei care degradează acizi uronici (Cohn). Enzima care atacă creatina este inactivă faţă de diferiţi derivaţi ai acesteia, iar enzima care atacă gluconatul este la rîndul său inactivă faţă de cetogluconaţi sau alţi compuşi apropiaţi.

Datorită specificităţii pronunţate a unor enzime adaptative, acestea pot fi utilizate pentru realizarea unor metode foarte specifice şi sensibile de dozare a unor compuşi naturali (creatină, acizi uronici, d-arabinoză, d-riboză etc.).

O altă caracteristică a unor enzime adaptative constă în aceea că apariţia unei enzime adaptative faţă de un compus mai complex implică deseori şi apariţia adaptativă a enzimelor care intervin în etapele ulterioare ale degradării sale. Acest tip de adaptări a fost denumit de R. I. Stanier (187) adaptări simultane. Apariţia concomitentă a enzimelor adaptative care intervin în catabolismul unor substanţe mai complexe a putut servi în unele cazuri la clarificarea căilor pe care se metabolizează aceste substanţe.

Rezultate deosebit de interesante s-au găsit pe această cale la *Azotobacter* la care s-a stabilit că majoritatea enzimelor legate de utilizarea substanţelor nutritive se formează adaptativ.

I. O. Haris (61) a studiat prin această metodă căile de degradare a glucozei, manitei, acidului succinic şi lactic. Rezultatele obţinute sînt redate în tabloul nr. 10.

Din acest tablou se vede că gluconatul este probabil o etapă intermediară a degradării glucozei, în care se pare că intervin şi acizii lactic, piruvic şi acetic, pe cînd acidul succinic şi alcoolul

Scanned with OKEN Scanner

etilic nu sînt probabil metaboliți intermediari în cursul dezasimilării glucozei.

Prin aceeași metodă s-a putut stabili și că *Azotobacter agile* nu oxidează acetatul prin intermediul acizilor tricarbonici. Metoda adaptării simultane a servit și la studiul căilor de degradare a l și d- triptofanului, a unor compuși aromatici etc. Aceste cercetări arată că, complexul de enzime adaptative care intervine în diferitele etape ale degradării unor substanțe, poate fi uneori la fel de specifice ca și diferitele enzime adaptative față de substanțe izolate.

Tabloul nr. 10

Influența compoziției mediului de cultură asupra respirației la *Azotobacter*

Crescut în mediu cu	Consumul O_2 în prezență de 0,05 M substrat							
	Manită	Glucoză	Gluconat	Succinat	Lactat	Acetat	Alcool etilic	Piruvat
Manită	*100*	17	9	13	68	89	3	57
Glucoză	3	*100*	131	13	136	80	10	83
Gluconat	1	32	*100*	10	56	69	16	63
Succinat	0	0	0	*100*	78	0	10	16
Lactat	1	1	3	19	*100*	64	10	69
Acetat	1	3	1	9	27	*100*	9	47
Alcool etilic	13	14	5	5	6	56	*100*	31

Elaborarea enzimelor adaptative de către microorganisme este condiționată, în afară de prezența substratului specific și de vîrsta culturilor, de starea lor fiziologică, ca și de existența unui complex de factori corespunzători în mediul ambiant.

Analiza acestor factori este deosebit de importantă, fiindcă permite clarificarea condițiilor apariției unor procese adaptative în funcție de mediu, condiții care în cazul altor procese adaptative mai complexe pot fi stabilite numai indirect.

Condițiile de mediu în care apar enzimele adaptative depind atît de enzimă, cît și de specia bacteriană respectivă.

Proteazele apar deseori numai în prezența ionului de calciu, iar la bacteriile propionice apariția fosfatazelor este condiționată de prezența ionului Mg în mediul de cultură. Elaborarea proteazelor este mult mai activă în prezența extractelor de levuri decît pe medii preparate pe bază de bulion. Deseori, pentru formarea unor enzime adaptative este nevoie de prezența

unor vitamine și aminoacizi, care servesc la sinteza proteinelor din compoziția acestor enzime. La *E. coli* crescut pe medii sintetice, adăugarea de arginină la mediu nu duce la activarea decarboxilazei argininei, proces care are loc dacă microbul a fost cultivat pe hidrolizat de cazeină. Date analoge au fost găsite în privința tirozin-decarboxilazei la *Str. faecalis*, în timp ce alte enzime adaptative se pot forma și pe seama azotului endogen, în absența oricărei surse de azot din mediu.

Un interes biologic deosebit prezintă acele cazuri în care adaptările la o substanță nutritivă se fac numai atunci cînd microorganismul este obligat să o folosească, din lipsa unor substanțe nutritive mai ușor utilizabile.

B. typhi murium, de exemplu, nu utilizează d-tartratul în prezența altor surse de carbon și îl consumă în medii sintetice, în care d-tartratul servește ca singura sursă de carbon. Date analoge au fost găsite la o variantă de *Azotobacter*, care nu utilizează lactoza decît în medii sintetice cu nitrați (179).

Accentuarea capacității de a se adapta la unele componente din mediu, atunci cînd există obligația de a le consuma, a servit unor cercetători ca Dubos, Shaw ș. a. la obținerea enzimelor adaptative specifice față de polizaharizii capsulari ai diferitelor tipuri de pneumococi.

Vîrsta culturii are o mare importanță în elaborarea enzimelor adaptative. În general, adaptarea se face mai ușor la culturile tinere cu un metabolism activ și mai sensibil la influența mediului. S-au descris însă și cazuri în care enzimele adaptative se formează mai intens în faza staționară a dezvoltării culturilor. În aceste cazuri, se presupune că la culturile tinere are loc o utilizare intensă a proteinelor pentru sinteza unor componente celulare esențiale, astfel că formarea enzimelor adaptative poate avea loc abia atunci cînd aceste procese de sinteză sînt mai puțin intense.

Formarea enzimelor adaptative se face uneori foarte repede. Cercetările lui Harris au arătat că elaborarea enzimelor adaptative la *Azotobacter* se face cu o intensitate foarte mare, chiar în decurs de o oră ; date analoge au fost găsite la *E. coli* în privința tetrationazei, ca și a altor enzime adaptative.

O altă problemă importantă este cea a legăturii enzimelor adaptative cu înmulțirea celulelor și cea a proceselor metabolice din celula bacteriană.

Scanned with OKEN Scanner

încă în 1900 Dienert a arătat că galactozimaza se poate forma la drojdii în prezența galactozei și în cazul cînd nu are loc o înmulțire a celulelor. Ulterior s-au găsit date analoge și pentru tetrationoză, hidrogenliaza acidului formic și alte enzime adaptative. Chiar celule care în urma acțiunii razelor ultraviolete și-au pierdut capacitatea de înmulțire, pot forma enzime adaptative [1]).

Sinteza enzimelor adaptative, în lipsa înmulțirii celulelor, este legată de păstrarea capacității de a sintetiza proteinele, utilizînd, ca sursă de azot, fie azotul unor compuși azotați din mediu, fie azotul endogen provenit din degradarea unor proteine celulare.

În legătură cu această problemă, Spiegelman a arătat că, dacă se incubează drojdii în soluții tampon, lipsite de azot, în prezență de galactoză, se observă o formare activă de galactozimază, concomitent cu scăderea activității glucozimazei constitutive, a cărei proteină servește pentru sinteza proteinei galactozimazei. În cazul prezenței în mediu a unor compuși azotați, activitatea glucozimazei rămîne nemodificată, drojdia utilizînd pentru sinteza galactozimazei azotul din mediu.

Stephenson și Yudkin au arătat, în legătură cu aceeași problemă, că, în urma epuizării galactozei din mediu se observă o scădere lentă a activității galactozimazei ; această activitate scade însă repede prin adăugare de glucoză, în care caz proteinele galactozimazei sînt utilizate pentru sinteza glucozimazei.

Există și alte dovezi că enzimele adaptative se formează printr-o sinteză activă de proteine celulare. La *E. coli*, de exemplu, activitatea maximă a tetratianazei este la 44°, în timp ce temperatura optimă pentru formarea ei este cea de 37°, care corespunde cu optimul de temperatură al sintezei proteinelor.

Substanțele care inhibă sinteza proteinelor, ca 2-4- dinitrofenolul sau azidul de Na, inhibă și formarea enzimelor adaptative, fără să influențeze activitatea lor, fapt ce se poate constata în cazul adăugării acestor substanțe după formarea enzimei sub influența substratului specific.

Formarea de enzime adaptative depinde de asemenea și de metabolismul acidului ribonucleic, care are un rol important în sinteza proteinelor celulare, ca și de metabolismul fosforului,

---

[1]) Alteori însă, ca în cazul adaptării *E. coli* la d-sorbitol, aceasta se poate face numai în prezența unor aminoacizi, care asigură creșterea celulelor.

care servește ca transportor al energiei necesare sintezei proteinelor enzimelor adaptative.

Formarea de enzime adaptative mai depinde, după cum am mai amintit, și de alți factori, ca aerarea mediului, pH-ul lui etc. Toate datele de care dispunem în legătură cu formarea enzimelor adaptative arată că elaborarea lor de către microorganisme reprezintă un proces activ de adaptare metabolică a celulei la modificarea mediului. Adaptarea la modificările mediului se face, în acest caz, prin sinteza unor proteine specifice, sinteză care depinde atît de condițiile mediului, cît și de starea fiziologică a microorganismului.

Problema rolului substratului în apariția enzimelor adaptative a interesat nu numai pe specialiștii în fiziologie microbiană, dar și pe mulți microbiologi și biologi.

În legătură cu această problemă, se remarcă două tendințe opuse. Unii cercetători, influențați de teoria morganistă a genelor, consideră că enzimele adaptative nu sînt enzime cu totul noi, apărute sub influența substratului specific, ci sînt enzime preexistente, activate sau numai modificate cantitativ, sub influența mediului.

Cercetătorii sovietici, ca de altfel și mulți cercetători apuseni, au ajuns — pe baza datelor lor experimentale — la concluzia că enzimele adaptative sînt deseori enzime noi, care nu au preexistat în celulă și care apar prin sinteza unor proteine specifice, în urma necesității organismelor de a se adapta la noi surse de hrană.

Dintre teoriile preformiste cu privire la enzimele adaptative, teoria lui Yudkin consideră, de exemplu, că formarea enzimelor adaptative se poate explica pe baza legii acțiunii maselor. Enzima preexistentă în celulă, legată în mod reversibil de o substanță inactivă, se combină cu substratul odată cu apariția acestuia în mediu. Combinația enzimă-substrat fiind reversibilă, enzima poate ataca ulterior și alte molecule ale substratului respectiv. Această teorie, care neagă de fapt posibilitatea apariției unor enzime noi, duce la concepția că în orice celulă preexistă enzime și față de unii compuși sintetici care nu au existat niciodată în natură, sau cu care în condițiile sale naturale de viață, microorganismul nu vine niciodată în contact. Ea este o încercare de a aplica legi cu o valabilitate limitată cel mult la dinamica acțiunii enzimelor, la fenomenul mult mai complex al sintezei biologice a unor proteine specifice.

Scanned with OKEN Scanner

Cercetările care arată că formarea enzimelor adaptative este totdeauna însoțită de o sinteză de proteină nouă, infirmă și experimental concepția lui Yudkin cu privire la apariția enzimelor adaptative. Dubos a arătat, de altfel, că prezența substratului în sine nu este suficientă pentru producerea enzimei adaptative, ci sînt necesare și anumite condiții pentru metabolizarea acestui substrat. Teoria lui Yudkin nu poate explica nici modificările morfologice și fiziologice complexe, care apar adesea odată cu enzimele adaptative.

Argumentele valabile împotriva teoriei lui Yudkin sînt valabile în același timp și în privința teoriilor, după care substratul ar avea numai rolul de a apăra de distrugere enzimele adaptative, foarte labile, ca și a celor care neagă cu totul existența unor enzime adaptative, considerînd că metabolizarea adaptativă a substanțelor nou apărute în mediu s-ar datora în mod exclusiv unor modificări de permeabilitate. Această a doua concepție este infirmată și de faptul că enzimele adaptative au putut fi caracterizate prin metodele obișnuite de determinare și purificare a fermenților.

Concepția lui Monod, și mai ales cea a lui Hinshelwood (64) consideră elaborarea enzimelor adaptative ca o modificare specifică a sintezei enzimelor sub influența substratului specific, ceea ce duce la modificări în echilibrul reacțiilor enzimatice din celulă, la o reajustare a metabolismului celular și la sinteza unor proteine noi. Aceste teorii țin seama, într-o măsură mult mai mare decît teoria lui Yudkin, de complexitatea proceselor care stau la baza formării enzimelor adaptative și de rolul important al substratului în formarea lor. Totuși, nici ele nu pot da o imagine complet satisfăcătoare a rolului substratului în formarea enzimelor adaptative.

Desigur că mecanismul formării enzimelor adaptative sub influența substratului nu poate fi considerată elucidată în prezent, ca de altfel nici problema mecanismului intim al modificărilor adaptative ale organismelor vii la mediu. Totuși, ținînd seama de datele existente, se poate spune astăzi cu destulă siguranță că apariția enzimelor adaptative nu poate fi explicată plecînd de la ipoteza activării unor enzime preexistente, ci numai plecînd de la ipoteza unei formări adaptative de proteine noi sub influența substratelor specifice.

Posibilitățile de a forma enzime adaptative depind de tipul de metabolism al speciei respective ; ele pot fi însă cu mult

Scanned with OKEN Scanner

lărgite, prin găsirea condițiilor necesare pentru formarea lor și prin zdruncinarea artificială a ereditații.

Problema adaptărilor temporare față de mediu nu se rezumă însă numai la formarea enzimelor adaptative, răspunsul microorganismului față de modificările mediului fiind deseori foarte complex. Substanțele existente în mediu nu se consumă în mod izolat, utilizarea unei substanțe influențînd metabolizarea altora. Mai intervine și modificarea continuă a mediului prin metaboliții intermediari, care îi pot schimba proprietățile chimice și fizico-chimice etc.

Analiza influenței întregului complex de factori din mediu este importantă nu numai pentru clarificarea căilor de metabolizare a unor substanțe nutritive din mediu, dar și din punct de vedere biologic general, răspunsul adaptativ la modificările mediului neputînd fi sezisat de cele mai multe ori decît ținînd seamă de toți factorii care determină această reacție a organismului. Analiza incompletă a factorilor din mediu poate duce uneori la concluzia eronată a lipsei unei legături între prezența substratului specific în mediu și activitatea enzimatică.

Ca exemplu, pentru analiza unui răspuns aparent neadaptativ al unui microorganism, vom reda experiențele lui S. Z. Brodskaia cu privire la activitatea unor bacterii termofile. S. Z. Brodskaia (19) a găsit că activitatea enzimelor proteolitice a bacteriilor termofile se poate păstra numai pe medii lichide și dispare cu timpul prin treceri pe medii solide, chiar dacă ele conțin gelatină, care reprezintă un substrat pe care aceste enzime îl pot hidroliza cu ușurință.

Analiza acestui fenomen a arătat că viscozitatea mare a mediilor cu gelatină împiedică difuziunea fermentului în mediu. Se produce astfel o acumulare de ferment în imediata vecinătate a celulelor, ceea ce pînă la urmă duce la o pierdere a capacității de scindare a proteinelor. Creșterea viscozității mediului, datorită unor concentrații mari de zaharoză (15—30%) are același efect. În schimb, în medii cu concentrații mici de gelatină are loc o secretare activă de proteaze, din cauză că viscozitatea mediului nu mai oprește difuziunea fermentului, acțiunea specifică a proteinelor din mediu putînd fi pusă în evidență numai pe medii puțin vîscoase.

Experiențele cercetătoarei Brodskaia nu sînt singurul exemplu de activare sau inactivare a unor enzime în funcție de consistența mediului. Quastel a observat pe medii solide o

inhibiție a formării catalazei de către *Micrococcus lysodeikticus*. Asparaginaza este mai activă la *Azotobacter* în culturile crescute în medii lichide, decît pe medii solide etc.

Deseori se observă o activare a utilizării unor zaharuri prin creșterea prealabilă a microorganismelor pe produșii de desfacere ai zaharurilor respective sau în prezența unor zaharuri apropiate. *Aspergillus flavus*, de exemplu, fermentează mai intens glucoza cînd este cultivat pe medii cu zaharoză, decît pe medii cu glucoză, și fermentează mai bine zaharoza, dacă este crescut pe medii cu cartof, decît dacă este cultivat pe medii cu zaharoză. *Penicillium glaucum* hidrolizează mai ușor inulina cînd este crescut pe zaharoză, decît dacă este crescut pe inulină. Date analoge s-au găsit și în privința hialuronidazei. Uneori poate avea loc și influențarea de către unele substanțe nutritive din mediu a metabolismului unor substanțe foarte diferite între ele. Jacoby și alți autori au găsit o influență pronunțată a unor zaharuri, polialcooli și acizi organici asupra producerii de urează. În prezență de glicerină, activitatea ureazică a bacteriei *Proteus vulgaris* crește cu 100%, iar în prezența lactatului, scade cu 50%. La *M. lysodeikticus* are loc o activare pronunțată a ureazei în prezența glucozei.

Un număr mare de cercetători s-au ocupat de influența glucidelor asupra metabolizării protidelor și a aminoacizilor (38), (39).

În urma acestor cercetări, s-a constatat că prezența glucozei în mediu influențează activitatea unor proteaze, ca și activitatea unui număr mare de dehidraze, carboxilaze și dezaminaze ale aminoacizilor.

În unele cazuri de influențare de către glucoză a activității unor enzime bacteriene ca inhibiția proteazelor la unii amonificatori și activarea arginindecarboxilazei, lizindecarboxilazei și histidindecarboxilazei la *E. coli*, acțiunea glucozei se datorește acidifierii mediului de cultură de către metaboliții acizi rezultați din fermentarea glucozei. În alte cazuri însă, cum ar fi inhibiția ornitindecarboxilazei, a alanindecarboxilazei, a dezaminazei acidului glutamic, a serindezaminazei etc., inhibiția se datorește unei acțiuni specifice independent de modificarea pH-ului mediului. Este caracteristic însă faptul că în același timp are loc și o activare a complexului de fermenți, care participă la fermentarea glucozei (glucozimaza), deci în acest caz găsim, pe lîngă modificări oarecum indirecte ale unor sisteme enzi-

matice, şi activarea sistemelor enzimatice specifice faţă de substanţele nutritive din mediu.

Inhibarea acestor sisteme enzimatice nu se datoreşte unei acţiuni directe asupra acestora, ci inhibării formării de către celulă a enzimelor respective.

O serie de cercetători au observat inhibarea activităţii triptofanazei (a formării indolului din triptofan) prin prezenţa unor zaharuri în mediul de cultură ; şi în acest caz s-a stabilit că există un anumit grad de specificitate a acţiunii inhibitoare a zaharurilor, formarea triptofanazei nefiind inhibată de unele zaharuri, deşi acestea sînt fermentate de celulele respective. Mecanismul inhibiţiei activităţii triptofanazice de către glucide nu a fost încă stabilit cu precizie, se pare însă că în acest mecanism ar interveni derivaţi intermediari fosforulaţi ai catabolismului glucidelor.

Inhibiţia prin glucide a asimilării protidelor şi aminoacizilor este un fenomen destul de răspîndit la diferitele specii de microorganisme. Una din cauzele răspîndirii largi a acestui fenomen este folosirea mai economică în scopuri energetice a glucidelor, substanţele proteice utilizîndu-se numai în absenţa altor surse de carbon.

Fenomene asemănătoare s-au găsit la bacteriile acetonobutirice, unde prezenţa unor compuşi azotaţi solubili, uşor de utilizat, inhibă activitatea proteazelor şi la *Azotobacter*, unde prezenţa ionului amoniu duce la oprirea fixării azotului.

Toate aceste date arată că influenţa compoziţiei mediului asupra metabolismului poate fi foarte variată şi prezenţa unui compus în mediu poate avea uneori influenţe diferite, în funcţie de prezenţa altor compuşi din mediu.

În afară de interferenţa acţiunii diferiţilor factori din mediu asupra reacţiei microorganismului, faţă de modificările mediului, această reacţie mai este influenţată şi de faptul că organismul viu nu este format din sisteme izolate, care reacţionează în mod independent la modificările mediului, ci el reacţionează ca un întreg, în multe reacţii adaptative faţă de modificările mediului privind atît activitatea enzimatică, cît şi compoziţia chimică şi morfologia microorganismelor. Unele modificări temporare în funcţie de mediu ale metabolismului, ca modificarea metabolismului drojdiilor în funcţie de condiţiile de aerare, sînt atît de profunde şi specifice, încît putem vorbi

Scanned with OKEN Scanner

de un complex de trăsături fiziologice şi morfologice caracteristice pentru anumite condiţii de viaţă.

Coordonarea şi interacţiunea continuă a tuturor funcţiunilor fiziologice ale celulelor explică transformările adînci şi în acelaşi timp unitare, atît de natură morfologică, cît şi de natură fiziologică, care apar în urma unor adaptări temporare la modificarea mediului [1]).

Modificările morfologice care apar în cursul adaptărilor temporare la modificarea mediului pot fi dintre cele mai diverse, pierderea temporară a capacităţii de a forma spori, modificarea structurii interne a celulelor, a formei lor şi înlocuirea diviziunii prin bipartiţie prin alte forme de diviziune etc. La fel de adînci pot fi şi modificările temporare ale întregului metabolism în funcţie de mediu, observîndu-se deseori un paralelism strîns între modificările fiziologice şi cele morfologice. Ne vom rezuma aici numai la cîteva exemple în această privinţă.

Noi am putut stabili (179) că *Azotobacter croococcum* crescut pe medii sintetice cu zaharoză prezintă, pe lîngă o întărire a activităţii zaharazice, şi o cantitate mărită de acid timonucleic şi azot total, iar în urma creşterii pe medii cu benzoat de Na are loc o scădere a activităţii zaharazice şi a cantităţii de azot total şi acid timonucleic. Pe mediile cu benzoat de Na are loc în schimb o secretare activă de benzoatază, ca şi o activare a asparaginazei. În acest caz găsim, pe lîngă activarea specifică a unor sisteme enzimatice în funcţie de substanţele nutritive din mediu (zaharaza şi benzoataza), şi alte modificări la fel de importante care se datoresc reacţiei întregului organism la schimbarea compoziţiei mediului.

Datorită proprietăţii tulpinii studiate de a utiliza în acelaşi mediu de cultură, succesiv, mai întîi fructoza din zaharoză şi apoi benzoatul de Na, se poate observa că în amestecul de

---

[1]) Modificările întregului metabolism în funcţie de modificările mediului nu pot fi înţelese decît dacă ţinem seamă de verigile comune ale metabolismului multor compuşi, ca şi de faptul că multe enzime posedă coenzime comune. Intensificarea utilizării unor compuşi intermediari în funcţie de adaptarea activităţii unor enzime la modificarea mediului, utilizarea mai intensă a unor grupări coenzimatice comune sau întărirea sintezei unor metaboliţi intermediari, poate duce la modificări ale multor altor sisteme fiziologice legate în mod direct sau indirect de metabolitul intermediar respectiv sau de coenzima respectivă.

Scanned with OKEN Scanner

zaharoză şi benzoat de Na, aceeaşi cultură are la început caractere de tip zaharoză şi ulterior, consumînd benzoatul de Na, capătă caractere de tip benzoat (scăderea activităţii zaharazice, a cantităţii de azot total şi acid timonucleic şi secretare de benzoatază). Aceasta arată şi mai net legătura între prezenţa anumitor compuşi din mediu şi apariţia unui anumit tip de metabolism.

Date deosebit de demonstrative cu privire la modificările adînci care se pot observa în funcţie de schimbările temporare ale mediului au fost găsite prin studiul modificărilor fiziologice şi morfologice, ce au loc în urma trecerii drojdiilor de la tipul respirator la cel de fermentare [1]).

Se ştie de mult că drojdiile metabolizează în mod diferit glucidele în condiţii aerobe şi anaerobe. În condiţii aerobe, are loc oxidarea lor pînă la bioxid de carbon şi apă şi în condiţii anaerobe se formează, în funcţie de specia de drojdie, pe lîngă bioxid de carbon, diferiţi produşi intermediari, dintre care cel mai frecvent întîlnit este alcoolul etilic.

Aceste două moduri de a utiliza glucidele, în funcţie de gradul de aerare al mediului, duc la modificări profunde de ordin morfologic şi fiziologic. Celulele de tip respirator au nucleul mai mic, bogat în acid dezoxiribonucleic ; condriomul lor este răspîndit în mod regulat în toată celula. Celulele drojdiilor de tip respirator conţin o cantitate mare de sterine şi flavine, vitamină B_6, sistemul citocrom-citocromozidază prezintă 4 benzi de absorbţie distincte etc.

Celulele de tip fermentativ sînt mai mari, au nucleul mai mare, sînt mai sărace în acid timonucleic şi mai bogate în acid ribonucleic. Condriomul lor este aşezat sub formă de benzi la marginea celulei şi absoarbe mai bine fluorocromii. Celulele de tip anaerob conţin mai multă tiamină şi mai multă codehidrază II (în schimb cantitatea de codehidrază I scade), ele sînt mai sărace în azot şi în triptofan etc.

Analiza modificărilor suferite de celule în cursul trecerii de la tipul respirator la cel fermentativ, sau invers, arată că în cursul adaptării la modificarea condiţiilor de aerare nu

[1]) Analiza acestor fenomene făcută de Maisel în monografia *Morfologia funcţională a levurilor* (131), prezintă un material deosebit de bogat cu privire la metodele de urmărire a modificărilor complexe în funcţie de mediu şi la legătura dintre modificările fiziologice şi cele morfologice, ce apar odată cu schimbările condiţiilor de viaţă.

există practic nici o proprietate fiziologică, care să rămînă nemodificată. Ca şi în cazul formării enzimelor adaptative, trecerea de la tipul respirator la cel fermentativ se poate face şi în lipsa unei surse de azot, în prezenţa unui zahar fermentabil, cu condiţia păstrării capacităţii de a sintetiza proteine noi.

Maisel a arătat că factorul determinant al acestor transformări este prezenţa unui zahar fermentabil în condiţii de anaerobioză. Experienţe făcute cu *Torulopis utilis* crescută în condiţii anaerobe în prezenţă de xiloză (zahar care este utilizat fără să fie fermentat) au arătat că aceste modificări morfologice şi fiziologice nu au loc în lipsa fermentării, cu toate că procesul de creştere nu a fost împiedicat. Nici anaerobioza singură şi nici creşterea în prezenţa produşilor de fermentare nu duc la această transformare, care se datoreşte modificărilor fiziologice legate de procesul de fermentare. Modificările fiziologice şi morfologice sînt cu atît mai adînci, cu cît specia de drojdie trece mai greu de la respiraţie la fermentare.

Transformări analoge au fost obţinute de Maisel şi în absenţa unui zahar fermentabil în cazul unui exces de vitamină B_1, ca şi în prezenţa unor substanţe cancerigene şi a ionului cyan. în condiţii naturale de viaţă însă, prezenţa unui zahar fermentabil este aceea care produce această transformare.

Este caracteristic faptul că pe medii complexe, apropiate de cele naturale, excesul de vitamină B_1 nu are efect, ea acţionînd numai pe medii sintetice sărace şi că biotina, care pe medii sintetice produce transformarea inversă, spre tipul aerob, nu are nici o acţiune în prezenţa unui zahar fermentabil.

Aceste transformări temporare adînci ale metabolismului în funcţie de anumite modificări ale mediului, descrise de Maisel, nu reprezintă excepţii. Nici o adaptare la mediu nu poate privi un singur caracter, ci numai organismul în totalitatea sa, anumite modificări fiind însă uneori mai greu de sezisat. Astfel, orice reînsămînţare a unei culturi bacteriene necesită, pe de o parte, o adaptare a celulelor la mediul nou, iar pe de altă parte, o adaptare continuă în timp la epuizarea substanţelor nutritive şi la acumularea în mediu a produşilor intermediari şi a celor de autoliză. Modificările proprietăţilor fiziologice şi morfologice, observate în cursul fazelor de creştere ale culturilor bacteriene, se datoresc într-o bună măsură

modificării în timp a mediului, cauzată de însăşi creşterea culturii.

După cum a arătat Ierusalimski, modificările de „vîrstă" ale unei culturi microbiene apar şi în condiţii naturale, din cauza epuizării rapide a substanţelor nutritive din mediu şi acumulării de produşi intermediari ; ele nu apar însă în ape curgătoare de exemplu, unde are loc o reînnoire continuă a mediului, şi apar într-o măsură mică în culturi artificiale, în care se realizează de asemenea o reînnoire continuă a mediului de cultură.

Din aceste date reiese că în analiza reacţiilor microorganismelor faţă de modificările temporare ale mediului, trebuie să ţinem seama de tot complexul de factori din mediu, care pot influenţa metabolismul microorganismului, în funcţie de cerinţele sale specifice, ca şi de faptul că reacţiile microorganismului la modificările mediului nu constau în reacţii izolate, ci în reacţii ale întregului organism.

Analiza valorii adaptative a unora din reacţiile organismului (cum ar fi de exemplu enzimele adaptative), se face relativ uşor, chiar dacă se iau în considerare şi reacţii metabolice izolate ; în alte cazuri însă, ea nu reuşeşte decît după ce se analizează interrelaţiile dintre microorganisme şi mediu, văzute în toată complexitatea lor.

Scanned with OKEN Scanner

PARTEA A DOUA

MODIFICAREA EREDITĂŢII MICROORGANISMELOR SUB INFLUENŢA MEDIULUI

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL I

EVOLUȚIA CONCEPȚIILOR DESPRE EREDITATEA ȘI VARIABILITATEA MICROORGANISMELOR

Problema legăturii microorganismelor cu mediul este strîns legată de problema influenței mediului asupra eredității microorganismelor. Originea diferitelor tipuri ecologice de microorganisme adaptate la mediul lor natural, supraviețuirea microorganismelor în condiții de viață improprii dezvoltării lor, dobîndirea și pierderea unor capacități fiziologice în cursul evoluției și alte probleme importante, nu pot fi rezolvate în mod satisfăcător fără analiza factorilor determinanți ai eredității și variabilității microorganismelor.

Alegerea metodelor de lucru întrebuințate în multe domenii ale microbiologiei aplicate, ca de exemplu în obținerea unor produse bacteriene noi utilizate în scopuri profilactice și terapeutice, a unor îngrășăminte bacteriene în agricultură sau a unor tulpini cu activitate biochimică înaltă, utilizabile pentru scopuri industriale, este și ea strîns legată de studiul factorilor care intervin în ereditatea microorganismelor. Din această cauză, și în domeniul microbiologiei, ca și în toate celelalte ramuri ale biologiei, problemele eredității, a posibilităților modificării acesteia, ca și a factorilor care determină modificarea sa, ocupă un loc deosebit de important.

Concepțiile actuale asupra eredității și variabilității microorganismelor nu pot fi înțelese fără a ține seama de factorii care au dus la apariția lor.

Evoluția concepțiilor despre ereditate în microbiologie este strîns legată, pe de o parte, de evoluția concepțiilor despre

ereditate în biologie, şi pe de altă parte, de evoluţia nivelului tehnic al microbiologiei.

Datorită tehnicii de lucru întrebuinţate la începuturile bacteriologiei care prezenta multe deficienţe (utilizarea aproape exclusivă a mediilor de cultură lichide, metode de izolare şi sterilizare defectuoase), bacteriologii din mijlocul secolului trecut nu au putut studia decît cu mare greutate proprietăţile diferitelor specii bacteriene. De multe ori cercetătorii din acea vreme aveau de-a face cu culturi mixte, pe care le considerau ca făcînd parte din aceeaşi specie. Lister, de exemplu, a însămînţat o picătură de lapte coagulat pe diferite medii, găsind că pe fiecare din ele cresc alte forme de bacterii. Necunoscînd faptul că pe fiecare din aceste medii vor creşte, din amestecul de specii care se găseau în picătura de lapte, acele specii care sînt mai bine adaptate la mediul respectiv, el a considerat toate bacteriile crescute pe diferitele medii ca făcînd parte dintr-o singură specie, *Bacillus lactis*. Billroth considera în aceeaşi perioadă că toate bacteriile patogene fac parte dintr-o singură specie, pe care a denumit-o *Coccobacteria septica*. Idei asemănătoare au fost emise şi de alţi cercetători dintre care Nägelli; acesta consideră, de exemplu, toate bacteriile ca făcînd parte dintr-o singură specie, ele putînd trece uşor dintr-o formă în alta. Diferitele forme ale bacteriilor nu ar reprezenta, după părerea acestor cercetători, altceva decît formele unui ciclu de viaţă pleomorf, asemănător cu cel al unei ciuperci. Această concepţie fixistă, în esenţă (ea consideră că toate transformările morfologice au loc în cadrul aceleaşi specii), nu a putut corespunde necesităţilor practicii, care cerea cunoaşterea exactă a originii bolilor infecţioase şi a căilor lor de răspîndire, pentru a le putea combate şi preveni.

Din această cauză, metodele de izolare a culturilor pure pe medii de cultură solidă, preconizate de Koch, şi concepţia sa şi a şcolii sale, după care fiecare specie bacteriană prezintă caractere distincte şi stabile, a reprezentat un progres deosebit de mare în microbiologia medicală. Tehnica culturilor pure a permis izolarea şi caracterizarea multor agenţi patogeni, ca şi reproducerea experimentală a unor boli infecţioase pe animale de laborator. Ea stă la baza producerii tuturor preparatelor bacteriene, a vaccinurilor, a serurilor şi a preparatelor de diagnostic. Metoda culturilor pure reprezintă şi astăzi metoda principală de cultivare a microbilor.

Scanned with OKEN Scanner

Din punct de vedere teoretic, şcoala lui Koch are meritul de a fi arătat că speciile bacteriene sînt reale şi că ereditatea lor poate fi la fel de stabilă ca şi cea a animalelor sau a plantelor.

Totuşi, atribuind speciilor bacteriene o stabilitate absolută şi considerînd că morfologia normală a microorganismelor este numai aceea care se observă prin cultivarea lor pe medii standard cum ar fi bulionul gelozat, aplicarea consecventă a acestor concepţii de către Koch, şi mai ales de către unii dintre elevii lui, a devenit o frînă în dezvoltarea ulterioară a microbiologiei. Este caracteristică în această privinţă lupta pe care a trebuit să o ducă Hauser cu monomorfiştii, pentru a dovedi succesiunea diferitelor forme de dezvoltare ale proteului.

Aplicarea consecventă a concepţiei monomorfiste a făcut ca la un moment dat microbiologia să rămînă în urma celorlalte ştiinţe biologice, unde datorită operei lui Darwin se admitea în general evoluţia speciilor. S-a ajuns astfel la situaţia paradoxală ca în microbiologie, domeniul în care se obţin cele mai uşor modificări ale eredităţii, să domine concepţiile fixiste ale lui Linné. Chiar şi astăzi, cînd variabilitatea microorganismelor nu mai poate fi contestată, se mai resimte încă influenţa şcolii monomorfiste, în negarea frecventă de către mulţi cercetători a posibilităţii obţinerii unor specii bacteriene noi şi în neîncrederea cu care este deseori primită obţinerea unor variante, diferite din punct de vedere morfologic sau fiziologic de tulpina de origine (aici intervine desigur şi faptul că filiaţia unor celule bacteriene modificate este deseori mult mai greu de stabilit decît filiaţia unor plante sau animale modificate).

Încă în timpul lui Koch s-a ogservat că bacteriile prezintă deseori forme morfologice diferite, în funcţie de mediul de cultură şi de vîrstă a culturii. S-au observat tot mai multe variaţii ale eredităţii microbilor, care nu puteau fi incluse în schema rigidă a fixităţii absolute a microbilor, dată de şcoala lui Koch. Toate aceste fapte au făcut imposibilă menţinerea concepţiei monomorfiste în forma ei iniţială, variabilitatea microorganismelor impunîndu-se ca o realitate, care a trebuit să fie recunoscută, într-o măsură mai mare sau mai mică, de către majoritatea microbiologilor.

Teoriile care au fost elaborate ulterior în legătură cu ereditatea microorganismelor de diferiți cercetători, se deosebesc în primul rînd prin soluțiile pe care le dau la două probleme principale (în parte legate între ele) ale eredității ; în primul rînd, problema dacă variațiile eredității microorganismelor sînt reale sau sînt numai faze ale unui ciclu vital (concepțiile ciclogeniste) și în al doilea rînd, admițînd posibilitatea modificării eredității microorganismelor, dacă aceste modificări sînt spontane și apar independent de factorii din mediu (concepțiile morganiste) sau dacă ele se produc în mod adaptativ, sub influența mediului.

În felul cum rezolvă aceeași problemă cercetătorii adepți ai diferitelor teorii, se poate vedea rolul important al concepției de bază în cercetarea științifică.

Teoriile ciclogeniste ale lui Löhnis și Smith, Mellon, Enderlein, Hadley ș.a., consideră fenomenele de variabilitate microbiană ca faze ale unui ciclu închis, în care pînă la urmă se revine la forma de plecare. Unele din fazele acestui ciclu de dezvoltare se pot păstra, după părerea lor, timp de multe generații, ceea ce ar putea fi considerat în mod greșit de către unii, ca o expresie a modificării eredității microorganismelor lor. Multe din concepțiile lui Löhnis, Mellon ș.a. amintesc de cele ale vechilor pleomorfiști. Ei descriu fenomene de sexualitate, formare de simplasmă etc. pe care le consideră ca fiind faze de dezvoltare ale speciei respective și nicidecum modificări ereditare. Aceste concepții, ca și o parte din materialul experimental pe care se bazează ciclogeniștii, au fost criticate de o serie de cercetători (Winogradski, Krasilnikov ș.a.). Totuși, unele observații ale acestor cercetători, ca acele care privesc existența unor faze acelulare sau ciclul de dezvoltare a unor specii bacteriene, reprezintă un material experimental prețios, care, reconsiderat și încadrat în concepții teoretice juste, a putut servi ca punct de plecare pentru cercetări ulterioare.

Concepțiile ciclogeniste ale lui Hadley se deosebesc de cele ale autorilor anteriori, prin faptul că Hadley se rezumă aproape exclusiv la interpretarea fenomenelor de disociație microbiană. El consideră aceste fenomene, cum ar fi trecerea de la forma de colonii „S“ (netede), în forma „R“ (rugoase), sau de la forma „M“ (mucoasă), în forma „S“, ca etape ale unui ciclu de dezvoltare care se petrece într-un cerc închis și totdeauna

în acelaşi sens. De obicei, cel mai uşor are loc transformarea „M"—„S"—„R", forma „R" fiind cea mai stabilă. Hadley consideră că mediul poate accelera sau încetini apariţia unor anumite faze de dezvoltare, însă el nu determină apariţia lor şi nici nu poate duce la fixarea lor ereditară.

Spre deosebire de concepţiile ciclogeniste, teoriile mutaţioniste admit modificări ereditare ale microorganismelor. Aceste modificări sînt însă provocate în mod exclusiv de mutaţiile spontane ale genelor, felul şi proporţia mutaţiilor fiind determinate de genotipul speciei respective. Factorii de mediu nu pot modifica apariţia spontantă a mutanţilor şi nici felul lor. Unii factori cu acţiune puternică, cum ar fi razele X, razele ultraviolete, temperaturi înalte sau unii compuşi chimici ca iperita, pot mări frecvenţa apariţiei acestor mutante spontane, însă nici ele nu pot determina felul mutaţiilor. Adaptarea la mediu se datoreşte în mod exclusiv selecţiei unor mutante apărute, independent de influenţa specifică a mediului.

După părerea morganiştilor, mutaţiile duc în majoritatea cazurilor la pierderi de capacităţi fiziologice, capacităţile fiziologice nou dobîndite datorîndu-se după părerea lor mai ales activării unor gene recesive sau încetării unor blocări genice.

În esenţa ei, această concepţie nu se deosebeşte de concepţia monomorfistă a şcolii lui Koch. Dacă în criteriul fixităţii speciei se include şi criteriul formării unei proporţii bine definite de mutante, a căror apariţie depinde în mod exclusiv de factorii interni ai indivizilor respectivi, specia microbiană devine o entitate la fel de abstractă şi independentă de influenţa mediului ca şi specia lui Linné. Acelaşi lucru este valabil şi pentru teoriile ciclogeniste.

Nevoile practicii, care cerea obţinerea de forme noi de microorganisme, au făcut ca diferitele domenii ale microbiologiei aplicate să se dezvolte independent de teoriile dominante în acea vreme, care nu îi puteau satisface cerinţele.

Încă Pasteur a utilizat modificarea microorganismelor sub influenţa mediului pentru obţinerea virusului rabic fix sau a vaccinului anticărbunos. Obţinerea vaccinului B.C.G. avirulent din bacilul tuberculos bovin virulent prin antrenări de lungă durată pe mediu cu bilă, obţinerea vaccinurilor vii brucelos, antipestos ş.a., ca şi atenuarea unui număr mare de virusuri s-au făcut prin metode cu totul diferite de cele preconizate de morganişti. Totuşi, această rupere a teoriilor do-

minante în microbiologie de practică nu a putut să nu aibă o influență negativă asupra dezvoltării ulterioare a microbiologiei. Dacă răsfoim revistele de microbiologie apusene din ultimii 10—15 ani, perioadă cînd, datorită condițiilor social-politice, morganismul a căpătat o poziție predominantă în apus și mai ales în Statele Unite, vom găsi un număr mare de articole tratînd despre nucleul bacterian (neglijîndu-se aproape complet celelalte componente ale celulei bacteriene) sau despre cromosomii la bacterii, studii asupra proceselor de segregare a unor caractere, după schema lui Mendel, asupra blocării de diferite funcții fiziologice sub influența unor factori cu acțiune puternică etc. în același timp, nu vom găsi decît foarte puține lucrări privind probleme atît de actuale cum sînt importanța epidemiologică a variantelor microorganismelor apărute în organismul uman în cursul procesului infecțios, cu privire la încercările de a obține tulpini de microorganisme mai bine adaptate la rizosfera diferitelor plante și cu privire la ecologia microorganismelor și cauzele apariției diferitelor tipuri ecologice etc. Prin aceasta, practica este lipsită de o bază teoretică corespunzătoare, ceea ce trebuie să ducă pînă la urmă la încetinirea dezvoltării unor ramuri importante ale microbiologiei.

Numărul restrîns de cercetări cu rezultate utile realizate prin metodele morganiste, cum ar fi obținerea unor tulpini deficiente, care pot servi la dozarea unor aminoacizi sau vitamine, obținerea unor tulpini cu procese de sinteză sau hidroliză blocate la un anumit nivel, fapt ce poate servi la urmărirea metabolismului unor compuși naturali etc., duc la obținerea unor tulpini mutilate care pot fi înmulțite în condiții de laborator, însă care în marea lor majoritate nu pot trăi în condiții naturale. Pe de altă parte, blocarea întîmplătoare a unor funcțiuni fiziologice și selecționarea variantelor astfel obținute nu pot servi ca o metodă rațională în diferitele domenii ale microbiologiei aplicate, unde se cer de cele mai multe ori tulpini perfect adaptate la condițiile solului sau la procesul industrial respectiv.

Numărul mare de lucrări care caută să dovedească totuși posibilitatea aplicării teoriilor morganiste în microbiologie se explică prin faptul că microbiologia este unul din domeniile biologiei care se pretează cel mai puțin intepretărilor morga-

Scanned with OKEN Scanner

niste şi unde influenţa mediului asupra eredităţii poate fi dovedită experimental cel mai uşor.

Caracteristic pentru situaţia actuală în microbiologie este tendinţa de a trage concluzii generale din experienţe particulare, cum sînt cele ale lui Lewis (122) cu *E. coli* mutabile şi ale lui Demerec (23) cu privire la dobîndirea rezistenţei la antibiotice (experienţe a căror interpretare a fost contestată de o serie de autori) şi introducerea unui număr mare de ipoteze ajutătoare, ca aceea a genelor citoplasmatice, a „Dauermodifikationen" (modificări adaptative neereditare de durată mai lungă), a genelor latente şi a unor serii de mutaţii succesive, care să explice dobîndirea gradată a unor caractere. Greutăţile pe care le întîmpină morganiştii în microbiologie în interpretarea multor fenomene sînt indicate şi de faptul că în marea majoritate a cazurilor ei nici nu ating problema dobîndirii unor caractere fiziologice noi, iar în cazul cînd o fac (Ryan (175) de exemplu), locul pe care îl ocupă discutarea acestor probleme este cu totul disproporţionat faţă de importanţa care se acordă pierderii unor caractere fiziologice.

In realitate, microbiologia este domeniul în care influenţa mediului asupra eredităţii microorganismelor se poate dovedi în mod deosebit de concludent. Labilitatea fiziologică pronunţată a multor microorganisme, ca şi numărul mare de generaţii ce pot fi urmărite, fac din microorganisme, poate cel mai accesibil obiect pentru studiul influenţei mediului asupra eredităţii organismelor vii.

Primul cercetător care a arătat importanţa teoretică a dobîndirii unor caractere ereditare noi sub influenţa mediului a fost Mecinikov, care a arătat că tocmai în domeniul microbiologiei s-a dovedit posibilitatea modificării caracterului bacteriilor prin modificarea condiţiilor mediului înconjurător, putîndu-se ajunge la modificări stabile care se transmit ereditar.

Ulterior, mulţi cercetători au admis, sub influenţa faptelor observate, ereditatea unor caractere dobîndite la microorganisme. In ultimul timp, de exemplu Abraham în legătură cu dobîndirea rezistenţei la antibiotice şi Hinshelwood (64) în privinţa acţiunii unor substanţe chimioterapeutice şi a adaptării la noi surse de hrană, admit, fără să situeze pe poziţia darwinismului creator, modificarea adecvată a eredităţii sub influenţa mediului.

În Uniunea Sovietică, unde morganismul nu a avut niciodată poziția predominantă pe care a avut-o în apus, au apărut înainte de Sesiunea din august 1948 a Academiei de științe agricole „V. I. Lenin", un număr mare de lucrări, în care se arată modificările eredității microorganismelor sub influența mediului. Dintre aceste lucrări, o atenție deosebită merită lucrarea teoretică a acad. N. F. Gamaleia (42), care se situează în mod net pe poziții miciuriniste și lucrările lui Grinbaum, Krasilnikov, Imșeneţki și ale altor autori, care dau dovezi importante pentru transmiterea ereditară a caracterelor dobîndite și combat o serie de teorii ciclogeniste și morganiste.

După Sesiunea din august 1948 a apărut un număr mare de lucrări, care au arătat posibilitățile largi de aplicare a biologiei miciuriniste în domeniul microbiologiei. Introducerea consecventă a teoriei miciuriniste în microbiologie a dus la reconsiderarea critică a materialului faptic imens acumulat în legătură cu fenomenele de variabilitate microbiană și la găsirea unor fapte noi care infirmă teoria genelor și în domeniul microbiologiei. În același timp, cunoașterea concepției miciuriniste a îndemnat cercetătorii să încerce transformarea microorganismelor conform cu cerințele practicii, dîndu-le și metodele necesare pentru realizarea acestor transformări.

Concepțiile microbiologilor miciuriniști se deosebesc în mod fundamental de cele ale pleomorfiștilor din secolul trecut, prin faptul că ei admit existența reală a speciilor și conservatismul eredității, care poate fi la fel de mare ca și cel al plantelor și animalelor. Ereditatea microorganismelor nu se modifică decît dacă organismul este obligat să se adapteze la noi condiții de mediu. Această adaptare, la rîndul ei, nu duce la transformări haotice, ci este determinată de evoluția filogenetică a speciilor respective.

Genetica miciuristă se deosebește de cea morganistă prin faptul că susține că modificările ereditare ale microorganismelor se fac sub influența mediului și în mod adecvat acestor influențe. Ea precizează în același timp că ele se fac prin modificarea ereditară a tipului de metabolism, fiind strîns legate de starea fiziologică în care se găsește organismul (stadiul de dezvoltare ontogenetică, gradul de zdruncinare a eredității etc.).

Adaptarea ereditară (modificarea nutriției de exemplu), în funcție de mediu, nu înseamnă însă că ea va fi utilă în orice condiții de viață. De aceea, abia selecția este factorul

care creează formele „armonice“ perfect adaptate mediului ambiant şi variaţiilor sale şi care, la rîndul lor se pot adapta la alte modificări ale mediului. În biologia miciurinistă, selecţia nu-şi pierde importanţa ei, numai că formele supuse selecţiei reprezintă rezultatul unei adaptări adecvate la modificarea mediului ambiant. Prin aceasta, metodele de selecţie ale microbiologiei nu se bazează pe alegerea mecanică a unor forme apărute în mod întîmplător, ci cercetătorul are posibilitatea să pregătească materialul corespunzător supus ulterior selecţiei şi să influenţeze în mod continuu ereditatea organismelor obţinute în urma procesului de selecţie. Prin aceasta miciurinismul se deosebeşte de concepţiile neolamarkiste şi vitaliste, care văd numai rezultatul final al interrelaţiilor organismului cu mediul, fără să analizeze factorii din organism şi din mediu, care duc la crearea diferitelor tipuri ecologice de microorganisme perfect adaptate mediului ambiant.

Pentru o mai bună înţelegere a rolului important pe care l-a avut introducerea concepţiilor biologiei miciuriniste în domeniul microbiologiei, pentru explicarea formării evoluţiei diferitelor tipuri ecologice de microorganisme, descrise în prima parte a lucrării, vom da, în cele ce urmează, cîteva date privind unele probleme ale microbiologiei, grupate pe temele variabilităţii microorganismelor în condiţiile lor naturale de viaţă şi a factorilor care intervin în variabilitatea dirijată a microorganismelor.

CAPITOLUL II

VARIABILITATEA MICROORGANISMELOR ÎN CONDIŢII NATURALE DE VIAŢĂ

Problema apariţiei diferitelor tipuri de microorganisme în condiţiile lor naturale de viaţă, ca şi problema modificărilor ereditare pe care ele le suferă odată cu modificarea mediului lor natural, prezintă un interes deosebit, atît practic, cît şi teoretic. Spre deosebire de plante şi animale, unde modificările ereditare sub influenţa mediului pot fi de cele mai multe ori uşor urmărite în condiţii care se apropie de cele din natură,

în biocenozele naturale ale microorganismelor din sol, apă, intestin etc. filiația diferitelor forme este deseori foarte greu de urmărit. Acesta este unul din motivele existenței unui număr destul de restrîns de date, deseori sporadice, cu privire la modificările pe care le suferă microorganismele în mediul lor natural, cu toate că datele obținute pe medii de cultură artificiale arată că ereditatea microorganismelor poate fi mai ușor modificată decît cea a organismelor pluricelulare. Din aceeași cauză, o parte din datele existente cu privire la modificările microorganismelor în mediul lor natural sînt de natură indirectă, fiind obținute prin compararea unor forme apărute pe medii artificiale, cu forme asemănătoare, găsite în natură. Astfel, Rautenstein (168) a obținut la *B. mycoides* diferite variante care, ulterior, au fost găsite și în natură. Date analoge au fost găsite de Muromțev cu privire la variantele aerobe ale unor bacili sporulați anaerobi și cu privire la tulpini de *Azotobacter* care au pierdut capacitatea de a fixa azotul atmosferic.

S-a obținut și trecerea experimentală a unor microorganisme care trăiesc în mod obișnuit în sol, în alte specii care trăiesc de asemenea în sol (de exemplu *B. mycoides* în *B. cereus* și *B. mezentericus*, *Pseudomonas aurantica* în forme asemănătoare cu *Ps. fluorescens* etc.). Probabil că astfel de transformări apar și în condiții naturale. Am mai arătat că în rizosfera diferitelor plante există mai multe rase de *Azotobacter*, ca și alte microorganisme adaptate la planta respectivă; că odată cu schimbarea plantelor care se dezvoltă într-un anumit loc, se produce desigur nu numai schimbarea compoziției florei microbiene din sol, dar și o adaptare a diferitelor specii de microorganisme la noile specii de plante. Din această cauză, lucrările care se ocupă cu schimbarea eredității microorganismelor în condiții apropiate de cele din mediul lor natural (apă, sol, organismul animal și plante pentru organismele patogene și fitopatogene) capătă o importanță mare nu numai pentru explicarea filogeniei unor specii de microorganisme, dar și pentru studiul modificărilor în funcție de mediu, al biocenozelor naturale. În afară de importanța teoretică a studiului variabilității microorganismelor în condiții apropiate de cele naturale, aceste lucrări prezintă și un interes practic. Prin urmărirea modificărilor pe care le suferă microorganismele din sol, de exemplu sub influența

unor plante de cultură, se pot elabora metode de adaptare prealabilă la condițiile din sol a unor microorganisme care vor servi ca îngrășăminte bacteriene etc.

Numărul cel mai mare de date care privesc variabilitatea microorganismelor în condiții naturale de viață, s-au acumulat în microbiologia medicală. Acest lucru s-a întîmplat pe de o parte din cauză că multe microorganisme patogene au putut fi urmărite ușor, datorită faptului că de cele mai multe ori ele pătrund numai incidental în organism și prezintă caractere distincte, bine studiate și deseori ușor de urmărit, iar pe de altă parte — și aceasta este cauza principală — fiindcă studiul variabilității microorganismelor patogene în mediul lor natural este legat de problema importantă a diagnosticului și epidemiologiei bolilor infecțioase. Din această cauză, cu toată importanța mare a variabilității în condiții naturale a microorganismelor importante pentru agricultură și industrie, ne vom ocupa în cele ce urmează numai de acest aspect al problemei.

În diagnosticul bolilor infecțioase se tinde totdeauna la identificarea cît mai precisă a agentului patogen prin metode serologice, biochimice, inoculare pe animale de experiență etc. În studiul epidemiologic al bolilor infecțioase se tinde de asemenea la stabilirea originii agentului patogen, prin diferite metode de identificare și diferențiere a microorganismelor patogene. Nevoile practicii medicale au dus din această cauză la o subîmpărțire, dusă foarte departe a diferitelor bacterii patogene, după caracterele lor biochimice, serologice, sensibilitatea la bacteriofag etc. Acumularea acestor metode tot mai fine, are o importanță foarte mare pentru diagnosticul precis al bolilor infecțioase, ca și pentru stabilirea originii unor infecții. Diferențierea bacililor tifici după sensibilitatea la diferitele tipuri de bacteriofag, sau diferențierea salmonellelor după structura lor antigenică, au permis stabilirea cu precizie a unor focare epidemice și reprezintă unul din principalele mijloace de prevenire a unor boli infecțioase și de lichidare a unor focare de epidemii. Una din condițiile principale puse de medicul de laborator și de epidemiolog cu privire la aceste caractere este stabilitatea lor. Microorganismele sînt însă organisme vii care își schimbă ereditatea în funcție de mediu, iar între caracterele modificate pot fi și unele considerate în mod obișnuit ca „tipice". Din acest punct de vedere, variabilita-

Scanned with OKEN Scanner

tea microbiană este ceva supărător pentru medicul de laborator și pentru epidemiolog, ceva care îi împiedică în identificarea comodă a agentului patogen în funcție de caracterele sale „tipice". Ca exemple pentru greutățile ce se pot ivi pentru epidemiolog în urma variabilității microorganismelor patogene în mediul lor natural, redăm cercetările lui M. G. Dumeș (27), cu privire la stabilirea originii unei epidemii de toxiinfecție alimentară. În cursul unei toxinfecții alimentare s-au putut izola bacili din grupul Salmonellelor, din carnea de vacă, care a dat naștere la infecție, din laptele aceleiași vaci și din fecalele bolnavilor. Tulpinile izolate din fecale prezentau structura antigenică de *S. dublin,* cele din lapte de *S. enteritidis,* iar structura antigenică a Salmonellei izolate din carne nu a putut fi încadrată în nici unul din tipurile serologice cunoscute ale Salmonellelor. Dacă nu ar fi fost bine cunoscută originea acestei toxiinfecții, nu s-ar fi putut stabili legătura acestor Salmonelle.

Modificări ale structurii antigenice a B. tific și ale altor bacterii patogene, în cursul bolilor infecțioase și mai ales la convalescenți, au fost descrise de repetate ori. Uneori are loc o pierdere completă a aglutinabilității de către serul specific și o modificare profundă a caracterelor biochimice și culturale. Cunoașterea legilor după care au loc aceste modificări și găsirea unor medii de cultură, pe care un număr cît mai mare de variante să revină la forma de origine, poate da un ajutor prețios epidemiologului și medicului de laborator pentru identificarea acelor microorganisme patogene, care nu pot fi identificate după caracterele „tipice" ale speciilor respective. Același interes practic îl prezintă modificările microbilor patogeni (în special ale celor intestinali) în sol și în apă, ca și urmărirea variațiilor de virulență a bacteriilor patogene, în funcție de reactivitatea macroorganismului. Faptul că proprietățile macroorganismului și cele ale agentului patogen sînt într-o strînsă interdependență și se schimbă în mod continuu în cursul acestor interrelații constituie, pe lîngă analiza factorilor economico-sociali, un element important în analiza evoluției epidemiilor.

Cu toată importanța deosebită a variabilității microorganismelor patogene în condițiile lor naturale de viață, modificările ereditare pe care le suferă microorganismele pătrunse în organism și, în special, consecințele practice ale acestui fapt,

Scanned with OKEN Scanner

au fost mult mai puţin studiate decît structura antigenică a bacteriilor sau proprietăţile lor biochimice.

Această rămînere în urmă se explică nu numai datorită greutăţilor mari care există deseori în găsirea unor reguli în variabilitatea aparent întîmplătoare a microorganismelor în organismul animal, ci şi prin influenţa pe care au avut-o concepţiile monomorfiste asupra multor bacteriologi. Aceştia acordă importanţă numai formelor „tipice" cu caractere standard, cultivate pe anumite medii de cultură, fără să ţină seamă că aceste caractere „tipice" sînt rezultatul dezvoltării evolutive a speciei respective şi că ele se pot schimba, odată cu modificarea condiţiilor de viaţă ale microorganismului. Mai mult, chiar prin stabilirea factorilor care determină stabilitatea unor caractere şi variabilitatea altora, se poate găsi o bază biologică pentru explicarea apariţiei anumitor caractere tipice şi găsirea condiţiilor necesare păstrării lor. Desigur că cele expuse aici reprezintă într-o bună măsură un deziderat în momentul de faţă, studiul microorganismelor patogene după caracterele lor serologice, biochimice şi culturale „tipice" fiind la nivelul cunoştinţelor noastre actuale aproape singura cale posibilă de caracterizare a microorganismelor patogene. Faptul că acest deziderat a fost susţinut, mai ales după Sesiunea din august 1948 a Academiei de Ştiinţe Agricole „V. I. Lenin", de către cercetători ca Grinbaum, Kalina, Vîgdocikov, Minkevici ş.a., arată importanţa concepţiilor teoretice de bază în dezvoltarea diferitelor ramuri ale microbiologiei. Lucrările lui I. E. Minkevici (143), V. M. Jdanov (80), F. T. Grinbaum, G. P. Kalina ş.a., care explică existenţa proprietăţilor microbilor patogeni din grupul Enterobacteriaceelor, nu ca elementele unui sistem rigid, ci corespunzînd unei etape anumite în dezvoltarea evolutivă a acestor microorganisme [1]), reconsiderarea critică a lucrărilor vechi din domeniul variabilităţii microorganismelor patogene în condiţiile de viaţă naturale, ca şi lucrările experimentale apărute în ultimii ani, arată şi ele importanţa existenţei unei concepţii de bază juste pentru dezvoltarea acestor ramuri importante ale microbiologiei medicale.

---

[1]) Schema lui Kaufman de determinare a Salmonellelor după caracterele lor antigenice este considerată de ei ca un mijloc practic, util pentru determinarea diferitelor Salmonelle, însă nicidecum ca o schemă rigidă în care oricărei modificări antigenice îi corespunde o specie.

O expunere mai amănunțită a datelor care se cunosc în legătură cu problemele expuse mai sus ar întrece scopul acestei lucrări, așa încît noi nu vom da aici decît numai cîteva exemple mai tipice [1]).

În cursul cercetărilor modificărilor suferite de microorganismele patogene în organismul-gazdă, trebuie ținut seama pe de o parte de modificările mai mult sau mai puțin profunde pe care le suferă microorganismul în cursul interacțiunii cu macroorganismul și pe de altă parte, de zdruncinarea eredității pe care o suferă deseori microorganismul în cursul dezvoltării sale în organismul-gazdă ca și în urma trecerii de la condițiile de viață din organism la cele de pe medii artificiale. Această zdruncinare se manifestă prin variații mari ale caracterelor, care apar mai ales la primele treceri după izolarea din macroorganism.

În interpretarea datelor cu privire la variabilitatea microorganismelor patogene există o serie de greutăți. Pentru realizarea unor modificări ereditare este nevoie de un complex de factori, care depind atît de starea macroorganismului, cît și de cea a microorganismului. Din această cauză, apariția diferitelor variante în urma interacțiunii cu macroorganismul are deseori aspectul unui fenomen întîmplător. Acest fapt a dus uneori la discuții de lungă durată între cei ce au găsit fenomenul respectiv și cei care nu l-au putut repeta, micșorînd în același timp posibilitățile de control al faptelor găsite. Astfel de discuții au existat, de exemplu, între diferiți cercetători, cu privire la legătura posibilă între B. tific și *B. typhi flavum*, legătură care a fost confirmată pînă la urmă de un număr mai mare de cercetători. O altă greutate în interpretarea rezultatelor, mai ales în domeniul Enterobacteriaceelor, este cauzată de evoluția concepțiilor asupra proprietăților tipice ale diferitelor specii, astfel că unele rezultate obținute de autori mai vechi, bazate uneori aproape exclusiv pe caractere biochimice și de cultură, nu pot fi comparate cu rezultatele unor cercetări mai recente în această privință. Totuși, chiar la nivelul cunoștințelor noastre actuale, s-a putut stabili o serie de reguli în această privință, cum ar fi cele care privesc legă-

[1]) Pentru o documentare mai completă cu privire la această problemă, se pot consulta lucrările lui Kalina (81), Jdanov (80) ca și culegerea materialelor congreselor de la Gorki (1948) și Moscova (1951) cu privire la problemele de variabilitate microbiană, din care au fost extrase majoritatea exemplelor.

tura între B. tific, B. paratific şi *E. coli*, trecerea bacililor difterici în forme apropiate de bacili pseudodifterici etc., reguli determinate de originea filogenetică comună a acestor forme. S-a constatat că apar mult mai frecvent modificări mai puţin adînci (însă importante pentru diagnosticul bacteriologic), decît transformări adînci ale eredităţii care duc la formarea unor specii noi, fenomen care se poate explica prin conservatismul eredităţii diferitelor microorganisme.

Cele mai multe date cu privire la variabilitatea microorganismelor patogene în mediul lor natural se cunosc la Enterobacteriacee, în special la *E. coli*, B. tific şi paratific şi bacilii dizenterici. Acest grup de microorganisme în plină evoluţie, care, după părerea lui Minkevici şi Jdanov, s-a dezvoltat odată cu dezvoltarea societăţii omeneşti, îşi modifică deosebit de uşor proprietăţile.

Importanţa mare a febrei tifoide, a făcut să existe un număr relativ mare de lucrări cu privire la modificările bacilului tific în organismul bolnav şi sănătos şi în cursul primelor treceri după izolarea sa. Încă în 1911, Müller a descris transformarea B. tific în B. paratific. În 1929 Rozen, Felkovici şi Gulaeva (170) descriu izolarea repetată a unui bacil tific atipic care, spre deosebire de bacilul tific „tipic", formează indol, nu fermentează manita etc. Ulterior, Glezerova şi Garkin au putut izola şi ei bacilul de tip Rozen, arătînd apropierea sa de *B. morgan* şi B. paratific B. Este de remarcat faptul că o infecţie de laborator produsă cu un bacil de tip Rozen a dus la izolarea ulterioară de la bolnav a unui bacil tific tipic, ceea ce arată importanţa epidemiologică a unor astfel de variante. Există o serie de lucrări care arată trecerea B. tific în B. paratific B. şi *B. typhi flavum*, ca şi trecerea lui *B. typhi flavum* în B. tific. În 1931 de exemplu, Pşenicikov a observat, pe lîngă cazuri în care de la acelaşi bolnav se izolau atît B. tific, cît şi B. paratific B, şi cazuri cînd cultura iniţială de B. tific, controlată în prealabil în privinţa purităţii ei, a prezentat ulterior caractere de B. paratific B. O altă tulpină, care iniţial avea caractere intermediare între B. tific şi B. paratific, izolată de la un bolnav de febră tifoidă, a format în urma trecerilor pe geloză colonii cu caracterele bacilului partific B. şi altele cu caractere de *Alcaligenes faecalis*.

Dintre cercetările care au încercat să reproducă experimental aceste transformări în condiții care se apropie de cele din organismul uman, amintim pe cele ale lui Lotze, care a putut obține în urma cultivării bacilului tific în prezența diferitelor organe, atît treceri reversibile, cît și treceri ireversibile spre alte specii din familia Enterobacteriaceelor (paratifici, coli).

La B. tific s-au observat mult mai frecvent modificări mai mici ale caracterelor sale în cursul procesului infecțios, modificări care pot avea o importanță mare în diagnosticul febrei tifoide. Metoda cea mai utilizată pentru stabilirea originii B. tific, este tipizarea tulpinilor cu ajutorul bacteriofagilor specifici. După cum a arătat însă Galulina (40), sensibilitatea la bacteriofag, ca și gama de fagi care pot liza tulpina respectivă, pot varia uneori atît în cursul evoluției bolii, încît stabilirea tipului bacteriologic nu mai poate fi făcută. Autoarea observă același lucru și în privința aglutinabilității cu seruri specifice. N. Nestorescu, M. Popovici și E. Zilișteanu (155) au observat și ei modificări ale structurii antigenice la purtători sănătoși de B. tific [1]).

D. W. Brunner și P. R. Edwards (20) au putut arăta că sub influența serului imun specific, Salmonelle considerate ca făcînd parte dintr-un anumit tip serologic pot trece în alt tip. *Salmonella newport* în *S. pueris*, *S. thompson* în *S. cardiff*, *S. panama* în *S. italiana* etc. Probabil că procese analoge se petrec și în cursul bolilor infecțioase.

Jitova (58) a încercat să creeze un model experimental al modificărilor structurii antigenice și al proprietăților biologice ale bacilului tific în organismul animal, urmărind în special modificările antigenului Vi, care are un rol important în anihilarea reacțiilor de apărare ale organismului, determinînd într-o bună măsură virulența tulpinilor de bacili tifici.

Studiind două tulpini de B. tific, H-901, care după un control repetat conținea numai antigen O și Ty-2 conținînd ambele antigene, Jitova a putut observa că prin trecerea tulpinii Ty-2 pe bulion (mediul optim pentru tulpina H-901) are loc o scădere a aglutinabilității de către serul Vi și o creștere a

[1]) Modificări ale structurii antigenice, analoge cu cele descrise mai sus, au fost descrise de W. Knapp și D. V. Garner (88) și în cursul unor infecții de laborator, unde structura antigenică a tulpinii de origine a putut fi studiată în mod precis.

aglutinabilității de către serul O ; în schimb, prin trecerea pe animal neimunizat, are loc o creștere pronunțată a cantității de antigen Vi, a virulenței, a capacității de invazie etc. (formele cele mai virulente se izolează din ganglionii mezenterici, locul unde se localizează și la om bacilul tific). Modificarea virulenței depinde de reactivitatea animalului, ea constituind un răspuns al microorganismului la reacțiile de apărare ale șoarecelui. Dacă bacilul se inoculează la animale în prealabil imunizate, se observă o modificare a proprietăților antigenice și de virulență și o scădere a cantității de antigen Vi, iar din plămînii unui șoarece în prealabil imunizat a putut fi izolată o tulpină neaglutinabilă și avirulentă, care își păstrează numai caracterele biochimice ale B. tific. Prin trecerea pe animale imune se obțin deci fenomene analoge cu cele care au loc în organismul bolnav în urma activității în cursul bolii a mecanismelor de apărare.

Prin trecerea pe șoarece neimunizat, tulpina H-901 lipsită de antigen Vi a putut fi transformată într-o tulpină cu antigen Vi și cu o virulență crescută. Aceste cercetări arată că atît în accentuarea caracterelor tipice ale microbului patogen, cît și în apariția unor variante atipice, factorul determinant este reactivitatea macroorganismului, la care microorganismul patogen este obligat să se adapteze.

Creșterea virulenței microorganismelor patogene în urma trecerii pe animale sensibile, ca și apariția sub influența mecanismelor de apărare ale organismelor-gazdă, a unor variante cu proprietăți uneori foarte diferite de cele ale tulpinii de origine au fost și ele interpretate de morganiști ca selecția unor substanțe apărute spontan.

Și această concepție a putut fi infirmată experimental printr-o serie de lucrări dintre care amintim cercetările lui Z. I. Galulina (40), care a arătat că se pot izola deseori de la bolnavi de febră tifoidă variante atipice, atît din sînge, cît și din fecale. Formele atipice de bacili tifici izolate din sînge sînt de obicei labile și revin după cîteva treceri pe mediu solid, la forma tipică de B. tific. La aceiași bolnavi se pot izola din fecale variante de B. tifici cu proprietăți identice. Variantele izolate din fecalele aceluiași bolnav sînt însă mult mai stabile și adesea nu mai pot reveni prin treceri pe medii solide la tulpina de origine. Deci condițiile de viață pe care aceste variante le întîlnesc în intestinul omului duc la stabilizarea

Scanned with OKEN Scanner

lor şi la fixarea ereditară a caracterelor modificate sub influenţa macroorganismului.

Un alt grup de microorganisme, la care s-au găsit modificări ale proprietăţilor lor în funcţie de modificarea mediului lor natural, este format de bacilii paratifici, şi în special de cei din grupul B. Prin activitatea lor biochimică, mai pronunţată decît a bacililor tifici şi dizenterici, şi prin patogenitatea lor faţă de un număr mai mare de animale, bacilii paratifici reprezintă oarecum o verigă intermediară între bacilii din grupul coli, saprofiţi, şi bacili tifici, strict patogeni pentru om.

Dintre cercetările privind variabilitatea bacilului paratific B. sau a unor bacterii care au dobîndit proprietăţile bacilului paratific B, amintim cercetările lui Maiofes şi Kicenko, care studiind o tulpină de paratific *B. schottmülleri*, au obţinut culturi cu caracterele *B. paracoli* şi *Alcaligenes faecalis*. Din aceste culturi, o parte şi-au păstrat caracterele, iar altele au revenit la forma de origine. Un fenomen analog, apărut sub influenţa bacteriofagului, a fost observat de Hönig, care a izolat din vezica biliară a unui purtător de B. paratific B, o variantă mucoasă de B. paratific B, care cu timpul a revenit la forma de origine. Un bacteriofag izolat din această variantă mucoasă a transformat însă tulpina de origine în *E. coli*. Fenomenul invers a fost descris de Sobernheim, care, studiind o tulpină de *E. coli* izolată de la un bolnav de febră tifoidă, a observat disocierea în 3 variante diferite. Prima variantă a trecut în mod gradat în decurs de 60 de treceri în B. paratific B *schottmülleri*, iar ulterior, cultura de B. paratific B astfel obţinută a dat naştere la variante asemănătoare cu *B. typhi flavum*. O a doua variantă, care era stabilă în timpul trecerilor pe medii solide, s-a transformat imediat prin trecere pe medii cu bilă, în B. paratific B, trecînd şi ea ulterior într-o variantă asemănătoare cu *B. typhi flavum*. Rozen şi Falkovici au descris o serie de variante de bacil paratific B izolat de la purtători. S-au descris şi variante de B. tific şi B. dizenteric foarte apropiate de B. paratific. B.

Numeroasele date experimentale, obţinute în legătură cu variabilitatea bacilului paratific B în mediul său natural, arată că el ocupă un loc important în filogenia Enterobacteriaceelor.

O altă specie de bacterii care se izolează frecvent, atît în cursul studiului variabilităţii de laborator, cît şi în cursul experienţelor făcute în condiţii apropiate de cele naturale, este *Alcaligenes faecalis*. După părerea lui Kalina însă, diferitele culturi descrise ca fiind de *Alcaligenes faecalis* sînt adesea tulpini de genuri patogene care şi-au pierdut antigenele specifice şi posibilitatea de a utiliza zaharurile. în felul acesta s-ar putea explica şi asemănările proprietăţilor biochimice ale acestor variante, care au origini foarte diferite.

Scanned with OKEN Scanner

O variabilitate la fel de pronunţată ca a bacililor din grupul tific-paratific se observă şi la bacilii dizenterici, la care Gureva şi Moskovaia, ca şi alţi autori, au descris de repetate ori dobîndirea caracterelor biochimice şi serologice ale altor tipuri de bacili dizenterici.

În ultimul timp s-au descris la bacilii dizenterici, ca şi la B. tific, variante galbene, care par să fie datorite unor adaptări la saprofitism.

Importanţa unor forme atipice de B. dizenterici în apariţia unor epidemii a fost arătată de A. Sorvina (184). Autoarea a putut stabili că o serie de cazuri de toxiinfecţii atipice au fost provocate de bacili dizenterici Sonne atipici, proveniţi dintr-un spital de boli contagioase. Ulterior, la persoanele care au venit în contact cu convalescenţii din aceste toxiinfecţii, au început să apară cazuri tipice de dizenterie Sonne, de la care s-a izolat un bacil hemolitic care producea o exotoxină puternică. Deci în aceste cazuri, în urma interacţiunii cu macroorganismul, s-a produs trecerea microbului atipic în forma virulentă şi dobîndirea unor proprietăţi biologice tipice.

Pe lîngă modificările pe care bacilii dizenterici le suferă în cursul procesului infecţios, deosebit de importante sînt caracterele pe care ei le imprimă prin procese de hibridare vegetativă altor microorganisme, în special bacilului coli. Kalina atribuie bacililor coli şi paracoli, care au dobîndit caractere de B. dizenteric, un rol important în prelungirea procesului infecţios.

Unii autori precizează că *E. coli* poate căpăta uneori, în urma adaptării directe la macroorganism, caractere care îl apropie de bacteriile intestinale patogene (în special de B. dizenteric). Astfel de fenomene ar fi mai frecvente la copii. După părerea lui Grinbaum, problema transformării lui *E. coli* în interiorul organismului în forme patogene este o problemă deschisă, care nu poate fi considerată rezolvată.

O dovadă deosebit de importantă pentru transformările uneori foarte adînci pe care le pot suferi microorganismele din grupul Enterobacteriaceelor în cursul interelaţiilor cu macroorganismul, sînt aşa numitele fenomene de convergenţă, descrise de Glezerova şi Gorkina (81). Aceşti autori au izolat de la un număr mare de persoane tulpini uneori foarte diferite, care aveau totuşi o serie de caractere comune. După o păstrare de mai lungă durată la temperatura camerei, circa 85% din tulpinile izolate de la aceeaşi persoană au dat forme identice (de obicei una din aceste variante trecea în cealaltă), în 5% din cazuri s-a realizat o apropiere parţială a variantelor, iar 10% din

aceste culturi nu au suferit nici o modificare (uneori însă variantele au dat naştere la o a treia variantă, diferită de cele izolate din organism).

Tabloul nr. 11 (după Kalina) redă cîteva rezultate obţinute de autori.

Tabloul nr. 11

Transformări la Enterobacteriacee
obţinute de *Glezerova* şi *Gorkina*

Tulpinile de origine	Rezultatul convergenţei
B. paratific B. tific	B. paratific
B. tific care formează indol + B. paratific indol +	B. tific indol +
B. tific indol + B. paratific indol + B. tific tip Rozen	B. tific indol +
B. tific indol + B. paracoli III	B. tific indol +
B. morgan I B. tific indol +	B. morgan I
B. paracoli IV B. paratific	B. paracoli IV
B. paracoli IV B. tific manită —	B. morgan II

Aceste forme reprezintă, după părerea autorilor, variante nestabile, care după un timp de la izolarea lor revin în majoritatea cazurilor la forma de origine, unele din ele putînd însă evolua mai departe, în alte forme, diferite de cele de origine.

Cu toată diversitatea rezultatelor obţinute de către diferiţii autori, cu toate greutăţile întîmpinate în interpretarea comparativă a rezultatelor, cauzate de metodele diferite de caracterizare a variantelor, s-au putut găsi cîteva reguli generale, valabile pentru apariţia variantelor Enterobacteriaceelor.

Variante atipice se izolează mai frecvent de la purtătorii sănătoşi şi de la convalescenţi, decît în faza acută a bolii, probabil din cauză că în aceste condiţii germenul este supus într-o măsură mai mare mecanismelor de apărare ale gazdei, îndreptate în

primul rînd împotriva proprietăţilor care determină patogenitatea sa şi care în acelaşi timp constituie şi caracterele sale „tipice". Variante atipice se izolează mai frecvent din fecale decît din sînge şi formele obţinute din fecale sînt de obicei mai stabile. Apariţia lor mai frecventă şi stabilitatea lor mai mare se datoreşte pe de o parte faptului că în intestin, pe lîngă influenţa macroorganismului, intervine şi cea a florei microbiene şi pe de altă parte, modificărilor mai frecvente ale hranei lor, decît în interiorul organismului.

În cursul studiului modificărilor ereditare ale Enterobacteriaceelor apărute sub influenţa macroorganismului, s-au observat, pe lîngă modificări mai puţin profunde, care sînt cele mai frecvente şi unde originea microorganismelor poate fi determinată relativ uşor, şi modificări mai profunde, variantele obţinute căpătînd caracterele altor specii de Enterobacteriacee. Totuşi, şi în aceste cazuri s-au putut observa anumite reguli în apariţia variantelor. S-a constatat că bacilul paratific B ocupă un loc important în acest tip de variabilitate. Această poziţie specială a bacilului paratific B s-ar datora, după Kalina şi Begmeister (83), faptului că el ar reprezenta o formă de trecere între *E. coli,* forma cea mai puţin specializată a Enterobacteriaceelor şi B. tific, forma cea mai specializată. Grinbaum a încercat chiar să stabilească anumite reguli în variabilitatea B. tific şi a diferitelor Salmonelle. La bacilii dizenterici, un loc asemănător cu cel al bacilului paratific B, îi revine bacilului dizenteric Sonne, care formează şi el o verigă de trecere spre *E. coli.*

Minkevici şi Jdanov dau următoarea schemă a evoluţiei filogenetice a Enterobacteriaceelor, care explică în parte frecvenţa unor variaţii mai îndepărtate în interiorul acestei familii.

După părerea lui Minkevici, *E. coli* ar fi iniţial adaptat la om. Din această cauză, el se găseşte mult mai frecvent la animalele şi păsările domestice, decît la cele sălbatice. Pătrunzînd în sol, el se transformă în variantele *B. coli citrovorum şi Aerobacter aerogenes,* care reprezintă adaptări ale bacilului coli la saprofitism. Jdanov consideră că paralel cu creşterea numărului animalelor domestice şi aşezărilor umane stabile, s-a produs şi o îmbogăţire continuă a florei intestinale a animalelor şi s-au creat condiţii favorabile pentru existenţa formelor patogene. În felul acesta, plecînd de la *E. coli* şi trecînd prin forma Paracoli au apărut diferite Salmonelle patogene, care cu timpul

s-au specializat față de diferitele specii de animale. Pe măsura creșterii numărului așezărilor omenești și a densității populației, mai ales în anumite părți ale globului, s-au dezvoltat, fie din diferite Salmonelle ale animalelor, fie din diferite tulpini de Paracoli, mai întîi specii mai polivalente, de tipul bacililor paratifici A și B, și ulterior B. tific, adaptat numai la om.

Dovada acestei evoluții o constituie diferitele specii de *E. coli* și mai ales Paracoli, cu proprietăți apropiate de cele ale Salmonellelor și variațiile frecvente ale speciilor patogene spre tipul mai primitiv, mai saprofit, atunci cînd condițiile de viață sînt favorabile formei saprofite. În același timp au loc desigur și variații în sens progresiv, în direcția unei întăriri a patogenității, însă nici variația înspre saprofitism nu trebuie înțeleasă ca o simplă repetare în sens invers a evoluției filogenetice. O evoluție analogă a avut loc în direcția Coli-Paracoli-bacteriile metadizenterice (Sonne)-B. dizenterici propriu-ziși (Shigella). Spre deosebire de evoluția Salmonellelor, evoluția genului Shigella s-a făcut de la început în sensul adaptării la om. J d a n o v consideră genul Shigella de origine recentă și în plină dezvoltare, ceea ce ar explica numărul foarte mare al variantelor de bacili dizenterici.

Aceste încercări, în parte încă ipotetice, arată posibilitatea găsirii unor căi raționale, bazate pe teoria evoluției, pentru explicarea mecanismului variabilității enterobacteriilor și implicit pentru găsirea unor reguli care să servească în practica bacteriologică și epidemiologică. În toate aceste cazuri de studiu al variabilității, trebuie însă avută în vedere și posibilitatea existenței unor fenomene de hibridare vegetativă, care pot duce la rezultate analoge.

Date asemănătoare cu cele de la Enterobacteriacee s-au găsit și la alte bacterii patogene, care fac parte din cele mai diferite genuri. S-au găsit astfel multe date cu privire la legătura dintre unele specii patogene și unele para- sau pseudospecii, specii apatogene, cu caractere asemănătoare cu speciile patogene respective. Aceste specii apatogene apar probabil prin transformările suferite de unele microorganisme patogene în condiții de viață defavorabile. În alte cazuri însă, nu poate fi exclus nici fenomenul invers al dobîndirii de către multe specii saprofite a unor caractere de patogenitate, fenomen care stă la baza apariției tuturor speciilor patogene de microorganisme.

Scanned with OKEN Scanner

Uneori, ca în cazul cercetărilor lui P. P. Zaharov şi E. S. Gudkova (213), s-a putut stabili şi legătura dintre diferitele specii patogene existente. Aceste cercetări au arătat că *Cl. Perfrigens*, izolat din răni craniene şi mai ales din cele toracice, capătă caractere care îl apropie de *Cl. fallax*, iar în cazul izolării din rănile muşchilor femurali, caractere care îl apropie de *Cl. oedematiens*. S-a observat frecvent că şi virulenţa tulpinilor izolate din aceste organe se apropie de aceea a *Cl. fallax* sau *Cl. oedematiens*. Autorii subliniază că din torace se izolează frecvent *Cl. fallax* şi că în urma cultivării *Cl. perfrigens* pe ţesut pulmonar se obţin forme apropiate de *Cl. fallax*. Aceiaşi autori au arătat că specia nepatogenă *Clostridium sporogenes* poate da naştere speciei patogene *Clostridium sordelli*.

Date deosebit de interesante, cu privire la transformarea unor specii de microorganisme patogene în altele, au fost găsite de către E. E. Sigalova (181), cu privire la ciupercile *Microsporum ferrugineum*, care parazitează numai omul, şi *Microsporum lanosum*, care parazitează atît animalele, cît şi omul. Autorul a putut transforma o specie în alta, atît în condiţii de laborator, cît şi pe animal. El explică frecvenţa mare la om a cazurilor de infecţie cu *M. ferrugineum* în timpul războiului, în regiunile apusene ale Uniunii Sovietice, unde înainte nu exista această ciupercă, prin faptul că în urma condiţiilor speciale ale războiului şi a dispariţiei animalelor domestice pe care ciuperca *M. lanosum* trăieşte în mod normal, ea a fost transmisă timp îndelungat de la om la om, transformîndu-se în *M. ferrugineum*.

Un număr mare de lucrări se ocupă de legătura posibilă între diferitele tipuri de B. tuberculos (de tip uman, bovin, aviar, *ranae* etc.). Unele din aceste transformări au fost contestate, presupunîndu-se existenţa unor infecţii mixte. Totuşi, datele care s-au adunat mai ales în privinţa trecerii bacilului tuberculos uman şi bovin în tip aviar, arată posibilitatea acestei transformări.

Nocard a putut transforma tipul bovin în aviar, prin introducerea bacililor tuberculoşi în organismul găinilor în saci de colodiu, iar Wolter (211), într-un număr mare de experienţe în care o infecţie preexistentă a găinilor cu bacili tuberculoşi aviari era exclusă, a obţinut, în urma inoculării unor găini cu bacili tuberculoşi bovini şi umani, trecerea acestora în bacili tuberculoşi aviari. La B. tuberculos s-au descris diferite forme morfologice atipice, ca şi variante care au pierdut acidorezistenţa. Mazur a putut cultiva timp îndelungat variante neacidorezistente de bacili tuberculoşi, arătînd că ele pot produce unele forme atipice de boală.

Un număr mare de cercetători s-au ocupat de variabilitatea sub influența macroorganismului a streptococilor, a bacilului influenței și mai ales a bacililor difterici.

La streptococi s-a descris de repetate ori trecerea streptococului hemolitic în *Streptococ viridans*. Înlocuirea treptată a streptococilor hemolitici prin *Streptococ viridans* a putut fi arătată atît la bolnavi de scarlatină, în cursul evoluției bolii, cît și în urma cultivării lor pe salivă, urină, ser de convalescent etc.

Importanța practică a variabilității streptococilor în cursul procesului infecțios a fost subliniată de Grinbaum, care a arătat că la începutul bolii numărul de streptococi care se pot tipiza este de 95%, pe cînd la sfîrșitul bolii el scade la 70%. În același timp, se observă și modificări ale proprietăților biochimice ale streptococilor izolați la sfîrșitul bolii.

Un grad pronunțat de variabilitate în organismul uman și pe medii de cultură artificiale se întîlnește și la bacilul difteric. La acesta apar variații foarte pronunțate ale capacității de a forma toxine. S-au descris și cazuri în care reactivarea capacității de a produce toxină sub influența macroorganismului poate duce la apariția bolii.

În organismul bolnavilor, și mai ales în cel al convalescenților, bacilul difteric poate suferi transformări adînci, ca schimbări ale tipului cultural și serologic, transformări în forme apatogene de bacili difterici și chiar de bacili pseudodifterici. Variante avirulente stabile, foarte îndepărtate de forma tipică a bacilului difteric, s-au obținut și *in vitro* sub influența unor săruri de Mn, Zn și, în ultimul timp, sub influența mierii (Dold).

Transformarea bacililor difterici în forme de coci și bacili pseudodifterici de tip Hoffman, a putut fi realizată și pe animale imune, obținîndu-se uneori și revenirea la forma de origine. În majoritatea cazurilor, aceste variante sînt stabile și nu par să aibă un rol mai important în apariția cazurilor de difterie. M. W. Fischer a semnalat frecvența mare a acestor forme atipice la foștii bolnavi de difterie, arătînd importanța cunoașterii lor, mai ales pentru diagnosticul retrospectiv al bolii.

Date asemănătoare au fost găsite și la alte specii de bacterii patogene, ca B. cărbunos (la care s-a putut arăta legătura cu bacilii pseudocărbunoși, *Hemophillus pertusis*, pneumococi, gonococi *B. pfeiffer* etc.

Acest bogat material faptic, desigur încă disparat și de o valoare inegală, ne arată totuși, că în urma interacțiunii cu ma-

Scanned with OKEN Scanner

croorganismul se produc modificări ereditare mai mici sau mai importante la toate speciile de microorganisme patogene, şi că aceste modificări nu se produc în mod haotic, ci sînt în funcţie atît de influenţa macroorganismului, cît şi de evoluţia filogenetică a microorganismului. Astfel se explică frecvenţa mai mare a apariţiei anumitor variante la anumite specii de microorganisme, ca apariţia pseudodifteroizilor la B. difteric, a streptococului *viridans*, la streptococul hemolitic etc. În afară de modificările ereditare pe care microorganismul patogen le suferă în urma interacţiunii cu organismul-gazdă, el poate suferi şi transformări reversibile, cum ar fi apariţia formelor filtrabile cu proprietăţi foarte diferite de cele ale microbului de origine şi care după Kalina sînt foarte sensibile, în cursul regenerării lor, la modificarea condiţiilor de viaţă, putînd duce la apariţia unor variante îndepărtate.

Studiul formelor filtrabile şi al rolului lor în procesul infecţios a căpătat un nou avînt, odată cu cunoaşterea rezultatelor cercetărilor savantei O. B. Lepeşinskaia, formele filtrabile fiind probabil un factor important în apariţia multor variante descrise pînă în prezent. De procesele de hibridare vegetativă apărute sub influenţa florei microbiene asociate, un alt factor de variaţie la fel de important, ne vom ocupa în capitolul următor.

În studiul variabilităţilor microorganismelor în mediul lor natural, trebuie ţinut seama şi de faptul că multe specii de microorganisme patogene trăiesc un timp mai scurt sau mai îndelungat şi în afara organismului uman sau animal, în apă, sol, diferite alimente, plante, aer etc. Deosebirile mari între aceste condiţii şi condiţiile pe care le găsesc în organismul omului şi al animalelor influenţează şi ele ereditatea microorganismelor patogene.

Şi în această privinţă, numărul cel mai mare de date se cunosc în privinţa Enterobacteriaceelor, unde rezistenţa diferită în apă, alimente sau în sol a formelor atipice, în comparaţie cu cea a formelor tipice, sau variaţiile patogenităţii lor, pot avea o importanţă practică deosebită.

Majoritatea cercetărilor în această direcţie s-au făcut prin însămînţări în apă sterilă sau în sol steril. Dintre datele obţinute în cursul acestor lucrări, amintim în primul rînd pe cele ale lui Rozen şi Plavskaia, care au cultivat B. tifici în condiţii apropiate de cele ale apelor curgătoare. Ei au observat o pierdere uneori ireversibilă a aglutinabilităţii, ca şi modificări ale proprietăţilor biochimice, atît în sensul pierderii capacităţii de a fermenta

unele zaharuri, cît şi în sensul dobîndirii capacităţii de a fermenta alte zaharuri, ca lactoza sau zaharoza. Smirnov şi Letaved obţin în aceste condiţii variante care dobîndesc caractere de *Alcaligenes faecalis*. Kalina şi Begmeister, studiind un număr mare de tulpini de B. dizenterici, obţin şase variante mai îndepărtate, dintre care două foarte apropiate de B. paratific B.

Rezultate analoge au fost obţinute şi de alţi autori, prin însămînţarea unor Enterobacteriacee în sol steril, ca şi prin introducerea unor saci de colodiu cu cultura respectivă în sol nesteril, constatîndu-se trecerea B. tific în variante cu caractere de *E. coli* şi *B. paracoli* (Cosmodemianski, Elin, ş. a.).

Uneori trecerea prin apă şi sol se manifestă numai printr-o zdruncinare a eredităţii, ceea ce duce la apariţia variantelor abia după izolarea bacteriilor respective din apă sau sol.

În legătură cu influenţa florei microbiene din sol asupra Enterobacteriaceelor, trebuie menţionate cercetările lui Komoda (92), care a obţinut sub influenţa unor bacterii sporulate, izolate din sol, transformarea *B. gärtner* în *B. typhi murium* şi a *E.coli* în *B. paracoli*.

Importanţa practică a acestor modificări ale Enterobacteriaceelor a fost arătată de Blohina (58). însămînţînd B. tific în apă sterilă, autoarea a obţinut în repetate rînduri un bacil Gram-negativ care, spre deosebire de B. tific, fermentează numai glucoza şi este aglutinat de către serul antitific la un titru foarte scăzut, pierzîndu-şi uneori complet aglutinabilitatea. Temperatura optimă a acestei forme, cu totul diferită de bacilul tific din care provenea, este de 30°, asemenea saprofiţilor din apă, şi ea rezistă mult timp şi în apă nesterilă. Varianta a putut reveni la forma de B. tific prin treceri repetate pe mediu cu ser. Ulterior, cunoscînd proprietăţile acestui microb, Blohina l-a putut izola şi dintr-o fîntînă care era sursa unor cazuri de febră tifoidă.

Problema modificărilor suferite în apă de microorganismele patogene a fost studiată şi la vibrionul holeric, leptospire şi alte microorganisme, constatîndu-se uneori modificări destul de profunde.

Toate aceste modificări ale microorganismelor patogene în mediul ambiant, cît şi cele care au loc sub influenţa macroorganismului şi a hibridării vegetative, cer elaborarea unor metode de diagnostic corespunzătoare, care să le poată sezisa.

Importanţa practică imediată a unor astfel de metode a fost subliniată de Vîgodcikov, Grinbaum, Kalina, Fischer, Berngov şi alţi cercetători.

Scanned with OKEN Scanner

Vigodcikov a arătat că în cazurile de tuse convulsivă apar, mai ales la sfîrșitul bolii, forme atipice, mucoase, de *Hemophillus pertussis*, care pot rezista după dispariția agentului patogen tipic și reprezintă un mijloc important pentru diagnosticul retrospectiv al tusei convulsive (am amintit mai sus datele analoge găsite de Fischer în difterie).

După Kalina, numărul mare de bacili dizenterici care se pot izola pe mediile cu bilă se datoresc faptului că în prezența bilei multe forme atipice de B. dizenteric trec în forme tipice. Pe baza datelor obținute cu privire la variabilitatea microorganismelor intestinale, s-a criticat și metoda curentă de determinare a gradului de infectare a apei prin determinarea bacililor coli din apă. S-a arătat că prin această metodă nu se determină formele atipice, care nu fermentează lactoza și care sînt un indiciu deosebit de prețios pentru aprecierea gradului de infectare a apei.

Prin aceste cercetări bacteriologia medicală capătă deci o lărgire a posibilităților sale de diagnostic. În același timp, studiul proprietăților „tipice" ale microorganismelor patogene, făcut după metodele curente (care își păstrează desigur în stadiul actual al cunoștințelor noastre valoarea lor pentru practică) nu se reduce numai la scheme oarecum empirice, ci el poate fi legat de problema biologiei microorganismelor patogene, de legătura lor continuă cu mediul ambiant.

Datele arătate cu privire la importanța practică și teoretică a variabilității microorganismelor patogene sînt valabile în aceeași măsură și pentru variabilitatea în condițiile naturale de viață ale microorganismelor importante pentru agricultură și industrie, unde elaborarea unor metode corespunzătoare pentru urmărirea acestor fenomene este la fel de acută ca și în microbiologia medicală.

În același timp, studiul variabilității microorganismelor în condițiile lor de viață, corelat cu studiul variabilității lor experimentale, este una din principalele metode de cercetare obiectivă a filogeniei microorganismelor și a formării diferitelor tipuri ecologice în funcție de mediul lor ambiant.

Primele rezultate obținute cu privire la legătura dintre diferitele specii de Enterobacteriacee și la formarea proprietăților microorganismelor patogene sub influența macroorganismelor, arată importanța acestor cercetări pentru precizarea căilor de apariție a diferitelor specii de microorganisme.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL III

MODIFICAREA EXPERIMENTALĂ A EREDITĂȚII MICROORGANISMELOR

Simpla descriere a diferitelor tipuri ecologice ale microorganismelor, ca și observațiile făcute asupra variabilității acestora în mediul lor natural, nu pot da decît o imagine cu totul incompletă a căilor de apariție a diferitelor tipuri ecologice de microorganisme și a factorilor care intervin în variabilitatea microorganismelor în mediul lor natural. Cauzele multiple care influențează ereditatea microorganismelor în mediul lor natural, ca și faptul că ele trăiesc acolo în biocenoze, fac ca originea unor tulpini cu caractere atipice să fie adesea greu de stabilit. Experiențele făcute în laborator constituie din această cauză una din căile principale pentru elucidarea condițiilor în care apar diferitele tipuri ecologice de microorganisme, ca și pentru realizarea unor experiențe model, care să indice în condiții mai ușor de urmărit factorii care intervin în variabilitatea naturală a microorganismelor. De aceea a trebuit să și recurgem adesea, în cursul expunerii de pînă acum, la descrierea unor experiențe făcute în condiții de laborator (experiențele de adaptare la temperaturi înalte, de dobîndire a capacității de a secreta substanțe cu acțiune antibacteriană etc.). Reproducerea în laborator a unor căi de dezvoltare a diferitelor specii de microorganisme, realizată prin cercetări de variabilitate microbiană experimentală în condiții care se apropie de cele naturale, a contribuit la elucidarea unor probleme importante de sistematică bacteriană. Prin astfel de cercetări s-a dovedit legătura dintre Micobacterii, Proactinomicete și Actinomicete, legătura între unele specii din genul *Sporoblomyces* și specii din genul *Torulopsis*. L. I. Medvinskaia (134) a putut stabili că *B. mezentericus fuscus* și *B. mezentericus niger* provin dintr-o singură specie. Pe această cale s-a putut stabili înrudirea multor specii de bacili sporulați, a diferite specii de *Pseudomonas* etc. Din această cauză, studiile de variabilitate microbiană experimentală, corelate cu observații asupra variabilității în condiții de viață naturală, constituie astăzi o metodă importantă de cercetare pentru rezolvarea unor probleme de filogenie a microorganismelor.

Reproducerea experimentală în condiții de laborator a unor modificări ereditare, care au loc în natură, nu este însă singura

problemă importantă care poate fi rezolvată cu ajutorul cercetărilor experimentale de variabilitate dirijată. Cerințele practicii impun tot mai mult dezvoltarea cercetărilor pentru obținerea unor tulpini mai active din punct de vedere biochimic, mai imunogene sau cu proprietăți antigenice care pot fi utilizate pentru diagnosticul de laborator al bolilor infecțioase. Căutarea unor astfel de microorganisme în natură întimpină uneori greutăți mari și adesea nici nu pot fi găsite în natură tulpini cu proprietățile cerute de practică. Este greu de presupus, de exemplu, că în natură ar putea exista microorganisme de la început perfect adaptate procesului tehnologic al unor fermentații. Tulpinile de *Penicillium*, care produc cantități mari de penicilină, necesită prezența în mediul de cultură a predecesorilor penicilinei, care nu există în mediul natural al Peniciliilor ; tulpini imunogene și avirulente pot fi și ele foarte greu găsite în natură, condițiile pentru apariția acestor proprietăți fiind deseori deosebite de cele întîlnite în mod natural. De aceea de multă vreme există, asemenea animalelor domestice, diferite specii „domestice" de ciuperci și bacterii întrebuințate de sute sau chiar mii de ani în diferite procese de fermentație.

Deci, în afară de căutarea în natură a unor specii corespunzătoare, calea cea mai rațională pentru obținerea unor tulpini de microorganisme cu anumite proprietăți utile constă în modificarea eredității lor în sensul dorit de experimentator. În felul acesta, cercetările de variabilitate experimentală încetează să se rezume la constatarea faptului că microorganismele își pot schimba ereditatea sub influența diferiților factori din mediu, ci capătă o importanță practică imediată, în sensul găsirii unor metode raționale pentru modificarea eredității microorganismelor în direcția cerută de practică.

Uriașa experiență acumulată de cercetătorii miciuriniști în domeniul modificării dirijate a naturii plantelor și animalelor începe să fie folosită tot mai mult de specialiștii din diferitele ramuri ale microbiologiei medicale, agricole și industriale, care tind să elaboreze metode de lucru corespunzătoare domeniului lor de activitate, bazate pe principiile biologiei miciuriniste.

La baza metodelor de lucru miciuriniste elaborate pentru schimbarea naturii plantelor și animalelor stă modificarea eredității organismului sub influența activă a mediului.

Principalele metode de lucru ale biologiei miciuriniste sînt :

a) Metoda aclimatizării, care se bazează pe influențarea directă a metabolismului prin condiții de viață alese conform naturii organismului și a scopului urmărit. Această metodă nu a avut totdeauna rezultate pozitive, influența directă a mediului nefiind uneori suficientă pentru învingerea conservatismului eredității.

b) Metoda hibridării sexuate apropiate sau îndepărtate, prin care se realizează, pe de o parte, combinarea patrimoniului ereditar și mărirea capacității de adaptare prin asimilarea reciprocă a doi gameți cu ereditate diferită și, pe de altă parte, zdruncinarea eredității în urma procesului de hibridare. Zdruncinarea eredității poate duce la o adaptare ulterioară mult mai ușoară a organismului la condițiile de viață alese de experimentator.

c) Metoda hibridării vegetative, care în esența ei biologică nu se deosebește de hibridarea sexuată și care permite și ea combinarea patrimoniului ereditar al ambilor parteneri. Ca și în cazul hibridării sexuate, în cursul procesului de hibridare vegetativă are loc o asimilare reciprocă a substanțelor produse de celălalt partener, dominanța caracterelor ca și reușita proceselor de hibridare depinzînd de condițiile mediului și stadiul de dezvoltare a ambilor parteneri.

Metodele de lucru miciuriniste care realizează asimilarea condițiilor mediului, fie prin adaptare activă la mediul ambiant, fie prin asimilarea activă a condițiilor de viață create de celălalt partener în cursul proceselor de hibridare vegetativă sau sexuată, permit o intervenție conștientă a omului cu scopul de a modifica ereditatea în sensul dorit. Prin alegerea conștientă a organismelor, crescute în prealabil într-un anumit mediu, după proprietățile lor, prin cunoașterea anumitor stadii critice ale dezvoltării ontogenetice și prin educarea ulterioară a formelor obținute, s-a ajuns astăzi în agrobiologie la situația ca să se poată prevedea uneori chiar și termenul în care se vor putea obține plante sau animale cu anumite proprietăți noi, cerute de practică.

Microbiologia nu posedă încă în momentul de față metode la fel de bine precizate și cu o bază teoretică suficient de solidă, care să ducă la rezultate corespunzătoare celor obținute în agricultură și într-o anumită măsură în zootehnie. Totuși, experiența acumulată de cercetătorii miciuriniști în transformarea plantelor și animalelor s-a dovedit a fi utilă și în microbiologie.

Deși metodele întrebuințate în agricultură sau în creșterea vitelor nu pot fi aplicate în mod direct în microbiologie, prin-

Scanned with OKEN Scanner

cipiile generale care stau la baza acestor metode sînt aplicabile în aceeași măsură la microorganisme, ca și la plante sau animale. La fel ca în agricultură sau în creșterea vitelor, introducerea metodelor de lucru miciuriniste constă nu numai în folosirea unor metode de lucru cu totul noi, dar și în dezvoltarea conștientă și justificarea teoretică a unor metode mai vechi născute din nevoile practicii și din aplicarea uneori empirică a unor observatii privind biologia microorganismelor. Din această cauză noi vom încerca să încadrăm în principiile metodologiei miciuriniste nu numai rezultatele mai recente, obținute în mod conștient în urma cunoașterii și aplicării biologiei miciuriniste, dar și unele rezultate experimentale mai vechi care au avut o importanță deosebită pentru obținerea unor tulpini de microorganisme cu proprietăți utile.

De la începuturile microbiologiei ca știință, metoda influențării directe a microorganismelor prin modificarea condițiilor de viață, metoda aclimatizării, a fost utilizată de către un număr mare de microbiologi, pentru obținerea unor modificări ereditare la diferite microorganisme.

Schimbarea eredității microorganismelor prin schimbarea condițiilor lor de viață s-a realizat mai ales în legătură cu utilizarea unor surse noi de hrană sau cu pierderea unor capacități de sintetizare a unor factori de creștere pe medii mai bogate, prin adaptarea la diferiți factori fizici din mediu, adaptarea la substanțe cu acțiune bactericidă și adaptarea la mediul biologic. Așa numita variabilitate „spontană" de laborator, care apare în cursul cultivării pe medii nutritive uzuale, manifestîndu-se prin fenomene de disociație, diferite modificări ale caracterelor fiziologice, „degenerarea" culturilor etc. și care apare mai ales la culturi bătrîne, păstrate mult timp pe același mediu de cultură, nu reprezintă o categorie specială de modificări ereditare, ci poate fi explicată și ea ca o modificare adaptativă în funcție de schimbările mediului. În multe cazuri este perfect valabilă observația lui Sapojnikov, care susține că dacă o tulpină degenerează nu este vina tulpinii, ci a experimentatorului, care nu a găsit condițiile de mediu corespunzătoare pentru păstrarea proprietăților ei utile.

De obicei nu se întîlnesc adaptări izolate față de substanțele nutritive sau față de factorii fizico-chimici sau biologici. Adaptarea față de modificarea presiunii osmotice sau adaptarea la macroorganism, înseamnă adesea și o adaptare la surse noi de

Scanned with OKEN Scanner

nutriție, la fel cum adaptarea la noi surse de nutriție implică de multe ori și adaptarea la mediul fizic sau chimic modificat.

Modificările ereditare în funcție de mediu se clasifică deseori în : variabilitatea simplă, cînd se modifică un singur caracter, și variabilitatea complexă, cînd odată cu modificarea specifică a unui caracter se modifică și alte caractere fiziologice și morfologice. Se mai deosebește variabilitatea + și variabilitatea —; se consideră plus-variante, variantele care dobîndesc noi capacități fiziologice și minus-variante cele care pierd capacități fiziologice. Termenul de variantă se întrebuințează pentru orice tulpină cu caractere modificate obținute experimental, variantele putînd să ducă uneori la forme care trec dincolo de cadrul speciei respective. Această împărțire a formelor de variabilitate este desigur și ea artificială. În nici un organism nu există caractere cu totul izolate, modificările unor caractere implicînd modificări ale altor caractere, oricît de neînsemnate ar fi ele, așa că putem vorbi mai curînd de un grad mai mare sau mai mic de complexitate a modificărilor ereditare ale microorganismelor. Așa numitele minus-variante nu suferă nici ele numai pierderea unor capacități fiziologice, ci, după cum am arătat, pot apărea în același timp compensări biologice, care să ducă la o mai bună adaptare la mediu decît aceea a formelor de origine.

Unele exemple cu privire la adaptări ereditare la modificarea condițiilor de nutriție, temperatură, pH, ca și adaptări la modificarea mediului biologic, au fost arătate în capitolele anterioare ; aici ne vom rezuma numai la expunerea unor exemple mai tipice.

La diferite specii de microorganisme se observă atît dobîndirea sub influența mediului a capacității de a utiliza surse de nutriție înainte inaccesibile, cît și a capacității de a sintetiza aminoacizi și vitamine. Dobîndirea frecventă a proprietății de a fermenta diferite zaharuri, ca și variațiile mari ce se observă în intensitatea consumării acestora, au determinat pe unii autori să acorde capacității de a fermenta unele zaharuri, ca și altor caractere biochimice ușor influențabile de mediu, o valoare redusă în caracterizarea unor specii de microorganisme.

În general, pentru a obține variante cu tipul de nutriție modificat, se recurge la cultivarea microorganismului respectiv în prezența unor zaharuri sau a altor substanțe nutritive ușor utilizabile, care sînt înlocuite cu timpul cu substanța la care vrem să-l adaptăm. În cazul cînd dorim să realizăm dobîndirea capa-

cității de a sintetiza unii factori de creștere, se cultivă microorganismul în prezența unor concentrații descrescînde a factorului de creștere respectiv, obligîndu-l pînă la urmă la sintetizarea respectivă. Viteza cu care se dobîndesc noile capacități enzimatice depinde atît de metoda de lucru utilizată, cît și de natura speciilor respective, diferitele specii adaptîndu-se mai ușor la unele substanțe și mai greu la altele. De exemplu, Krasilnikov arată că Actinomicetele se adaptează mai greu la hidroliza gelatinei și a amidonului, în timp ce *Propionobacterium pentozaceum* capătă această proprietate numai după cîteva treceri. La *E. coli mutabile*, adaptarea la fermentarea lactozei se face deseori în scurt timp, pe cînd la B. paratific B, nu s-a reușit încă adaptarea la fermentarea sorbozei în mai puțin de 18 zile (unele tulpini de *E. coli* nu au putut fi adaptate la fermentarea zaharozei nici după încercări de ani de zile). Este sigur faptul că prin găsirea unor metode de lucru corespunzătoare, bazate pe studiul cerințelor specifice ale speciilor respective, multe adaptări considerate astăzi de nerealizat vor fi realizate și se va putea reduce probabil cu mult timpul necesar pentru dobîndirea unor noi capacități fiziologice.

Un număr mare de cercetări s-au făcut în legătură cu dobîndirea de către diferite specii de Enterobacteriacee, a capacității de a fermenta zaharuri și polialcooli. Primele observații în această privință se datoresc lui U. Neisser (154) și R. Massini (138), care au observat că *E. coli mutabile* însămînțat pe medii lichide cu lactoză nu o fermentează la început, însă ulterior, după un interval de cîteva zile pînă la cîteva săptămîni, el începe să fermenteze acest zahăr. Dacă aceste culturi sînt trecute pe un mediu proaspăt cu lactoză, fermentarea acesteia are loc în 24 de ore. Date asemănătoare au fost găsite și în urma cultivării bacteriei pe medii solide cu lactoză, unde în culturi bătrîne apar la un moment dat colonii mici (așa numitele colonii fiice). care fermentează lactoza, caracterul de fermentare a lactozei transmițîndu-se ereditar. Modificări ereditare de același fel s-au găsit și în privința fermentării rafinozei de către B. paratific B, a lactozei, zaharozei, ramnozei, dulcitei și izodulcitei de către B. tific, a lactozei, maltozei, zaharozei și rafinozei de către *Shigella paradysenteriae* Sonne etc. Kosikov, Monod ș. a. au arătat că adaptarea la unele zaharuri, cum ar fi maltoza, facilitează adaptarea la alte zaharuri cu structură apropiată. Ca și în cursul formării enzimelor adaptative, s-au observat și în cazul adap-

tării ereditare și adaptări specifice față de izomerii de structură. Koser și Vaugham au obținut astfel la *E. coli*, *Aerobacter aerogenes*, *B. friedländer*, *B. schottmuller*, B. dizenteric Sonne și *Salmonella cholerae suis*, adaptări la d-arabinoză, aceste adaptări făcîndu-se după un număr diferit de treceri, în funcție de specia bacteriană. Adaptări transmisibile ereditar la utilizarea unor zaharuri s-au observat și la alte bacterii, alge, drojdii etc., datele obținute fiind apropiate de cele cu privire la formarea enzimelor adaptative (26). Este de remarcat faptul că la *S. globosus* fermentarea zaharozei apărută sub influența substratului se transmite ulterior, în cursul hibridării sexuate, ca un caracter dominant.

Se cunosc adaptări ereditare și la hidroliza proteinelor, și chiar la anumite fracțiuni ale proteinelor *(B. mycoides)*.

În afară de adaptările la utilizarea unor surse noi de hrană, sînt foarte importante din punct de vedere practic și adaptările la utilizarea mai bună a unor substanțe nutritive sau la utilizarea unor concentrații mari de zaharuri. Obținerea unor tulpini cu activitate biochimică mărită poate duce la creșteri importante ale randamentului utilizării materiei prime în industriile fermentative. L. I. Medvinskaia (134) de exemplu, a obținut culturi foarte active de *B. delbrückii*, adaptate la melasă, și prin aceasta ciclul de producție al fermentației lactice a putut fi redus de la 12—14 zile, la 9—10 zile, obținîndu-se în același timp o cantitate mai mare de acid lactic. Prin metode analoge L. I. Medvinskaia a putut obține tulpini care fermentează mai bine pentozele și o tulpină de *Aspergillus niger*, care crește mai bine pe medii cu bază de amidon.

Am mai amintit și de experiențele de adaptare la sinteza unor factori de creștere, care se pot realiza atît la bacterii, cît și la ciuperci. Dobîndirea unor posibilități noi de a sintetiza factori de creștere, ca și întărirea capacității de a forma factori de creștere nu este importantă numai pentru industria vitaminelor, multe vitamine preparîndu-se prin procese microbiologice, dar și pentru cultivarea unor bacterii și drojdii pe medii mai sărace, care devin astfel accesibile industriilor fermentative.

Uneori, cum ar fi de exemplu, în cursul adaptării *E. coli mutabile* la lactoză nu apar modificări corelative mai importante (cu toate că și în aceste cazuri este greu de presupus modificarea unor caractere izolate). În alte cazuri însă, ca de exemplu în cazul adaptării B. tific la lactoză, s-a observat și dobîndirea caracte-

Scanned with OKEN Scanner

rului de a forma indol. Date deosebit de semnificative în această privință au fost găsite de M. V. Rotmistrov (171). Bazîndu-se pe unele proprietăți fiziologice asemănătoare, acest autor a susținut că bacteriile butirice și celulozice ar fi grupe de bacterii înrudite. Prin adaptarea de lungă durată la medii cu celuloză, el a observat la 20 de tulpini de *Granulobacter pectinivorum*, *Clostridium acetobutylicum* și *Bacillus amylobacter* dobîndirea capacității de a fermenta celuloza. Variantele obținute fermentează mai bine celuloza decît bacteriile celulozice izolate din mediul lor natural, caracterele nou dobîndite păstrîndu-se nemodificate timp de peste 10 ani. Analizînd toate modificările suferite de către aceste bacterii, autorul ajunge la concluzia că bacteriile celulozice pot fi reunite cu bacteriile butirice într-o singură specie, *Clostridium omelianschi*.

Adaptările la noi surse de nutriție au fost și ele considerate de morganiști ca rezultatul unei mutații spontane care apare independent de mediu și care este selecționată ulterior în funcție de mediul respectiv. Faptul că pe anumite medii selecția variantelor apărute spontan se face mai ușor, dă, după părerea lor, imaginea aparentă a unei adaptări la mediu. Morganiștii se bazează în această privință mai ales pe experiențele lui Lewis (122) care a căutat să dovedească experimental selecția unor variante „spontane". Lewis a însămînțat un număr mare de celule pe medii semisintetice cu lactoză sau glucoză, găsind că proporția coloniilor crescute pe lactoză față de cea a coloniilor crescute pe mediu cu glucoză este de 1 : 100.000. El consideră că toate coloniile apărute pe lactoză provin din celule preadaptate la lactoză în urma unor mutații spontane. Kosikov (95), Imșeneț ki, Hinshelwood ș. a. au arătat că în experiențele lui Lewis se poate presupune la fel de bine că adaptarea la lactoză a avut loc abia după însămînțarea pe mediul cu lactoză, iar proporția de 1 : 100.000 de celule care s-au putut adapta reprezintă proporția de celule mai ușor adaptabile și care au putut rezista unor modificări atît de profunde ale mediului, ca trecerea de la medii lipsite de lactoză pe medii unde lactoza este singura sursă de carbon.

Adaptările gradate care necesită deseori un număr mare de treceri, cum se observă în cursul adaptării la utilizarea unor proteine, la fermentarea celulozei sau la sinteza unor factori de creștere, indică și ele lipsa unor mutații spontane.

Scanned with OKEN Scanner

Semnificative în această privință sînt și experiențele de adaptare la temperaturi înalte ale cercetătoarei Longhinova și cele de adaptare la concentrații mari de alcool ale lui Saenko. Trecerea imediată la temperatura maximă de creștere sau la concentrațiile mari de alcool duce după cîteva însămînțări la degenerarea culturilor, pe cînd cultivarea pe medii cu concentrații crescînde de alcool sau la temperaturi crescînde permite elaborarea unor procese fiziologice, care duc la adaptarea la condiții de viață schimbate. Faptul că modificările ereditare în funcție de schimbarea nutriției se fac mai ușor la culturi tinere, cu un metabolism mai intens, indică și el existența unui proces fiziologic de adaptare activă la surse noi de nutriție.

Am mai amintit și de adaptările la diferiți factori nocivi ca antibioticele, antisepticele, diferitele substanțe medicamentoase etc. În cele mai multe cazuri, mecanismul biochimic al acestor adaptări nu este încă bine cunoscut, el variind probabil și față de aceeași substanță, în funcție de specia de microorganism. Rezultatul adaptării poate fi, fie inactivarea substanței respective (de exemplu inactivarea enzimatică a penicilinei prin secretarea de penicilinază), fie sinteza întărită a substanțelor a căror activitate este inhibată de substanța medicamentoasă (de exemplu întărirea sintezei acidului p-aminobenzoic la unele tulpini rezistente la sulfamide), fie—ceea ce se întîmplă probabil de cele mai multe ori în cursul instalării rezistenței la antibiotice — suplinirea unor reacții metabolice inhibate, prin întărirea unor alte mecanisme fiziologice paralele sau chiar apariția unor noi căi de sinteză și de degradare a unor substanțe din organism. Ca exemplu poate servi înlocuirea unor etape din ciclul acizilor tricarbonici la B. tuberculos rezistent la streptomicină sau dobîndirea capacității de a sintetiza unii aminoacizi la bacteriile Gram-pozitive devenite penicilino-rezistente. Deseori intervin probabil și modificări de tensiune superficială, de permeabilitate etc. Din cauză că adaptarea la antibiotice și antiseptice duce la modificări multiple de natură fiziologică și morfologică, fenomenele primare pot fi adesea cu greu deosebite de epifenomene.

Ca și adaptarea la surse noi de hrană, apariția formelor rezistente la antibiotice a fost considerată de morganiști ca fiind datorită tot selecției unor forme rezistente preexistente sau apărute în mod spontan. Creșterea gradului de rezistență odată cu trecerile succesive pe medii cu antibiotice este considerată de

morganişti ca un fel de ortogeneză, apariţia unei gene care duce la o rezistenţă crescută faţă de antibiotic, determinînd apariţia succesivă a unui număr mare de alte gene, care au drept consecinţă accentuarea continuă a rezistenţei faţă de antibioticul respectiv. Demerec (23) a încercat să dovedească experimental această concepţie printr-o serie de experienţe în care arată că, însămînţînd pe medii cu antibiotice o populaţie bacteriană foarte numeroasă, se constată existenţa cîtorva celule rezistente, care vor da naştere pînă la urmă la o nouă populaţie rezistentă la antibiotic.

Cercetările lui V. L. Troiţki, Z. K. Perşin şi N. N. Soloviov (200) au putut dovedi experimental că interpretarea dată de morganişti experienţelor lui Demerec este greşită. V. L. Troiţki şi colaboratorii săi au determinat în prealabil, la populaţii mari de *E. coli* şi Stafilococ auriu, numărul de microbi la care apar celule „spontan" rezistente la antibiotic. Însămînţînd apoi cantităţi foarte mici de microbi pe care le treceau în intervale scurte în prezenţa unor cantităţi crescînde de antibiotic, ei au putut ajunge la dobîndirea de către întreaga populaţie microbiană a unui grad de rezistenţă mai mare decît cel al indivizilor „spontan" rezistenţi, cu toate că numărul total de celule apărute în urma diviziunilor celulare în cursul tuturor trecerilor era mai mic decît numărul minim de celule în care s-a observat apariţia unor variante „spontane".

În alte experienţe, ei au putut urmări la microscop apariţia unor forme rezistente de *E. coli* sub influenţa penicilinei. La doze mari de penicilină de 2000, 1000 şi 500 U. pe cm^3, care sînt bactericide, nu apar forme rezistente. La doze ceva mai mici, subbactericide, se poate observa la grupuri mici de cîte 2—3 celule, că unele celule se alungesc fără să se dividă şi pînă la urmă se lizează, în timp ce altele, alungindu-se, dau naştere la un moment dat, la unul din capetele lor, unor celule de dimensiuni normale, care la rîndul lor încep să se dividă, formînd microcolonii rezistente la penicilină.

Aceste experienţe ale lui Troiţki arată că apariţia formelor rezistente la antibiotice nu se datoreşte selecţiei unor celule izolate dintr-o populaţie de miliarde de celule, ci că ele pot lua naştere în populaţii mult mai mici, de cîteva celule chiar, cu condiţia existenţei factorului care determină apariţia rezistenţei — în exemplul arătat, prezenţa antibioticului.

Scanned with OKEN Scanner

Concepția morganistă despre apariția formelor rezistente la antibiotice a mai fost infirmată și prin alte date, obținute de diferiți autori.

Este puțin probabilă apariția spontană la cele mai diferite specii de microorganisme a unor forme rezistente la diferite sulfonamide sau alte substanțe antibacteriene sintetice, sau față de diversitatea mare a substanțelor antibacteriene produse de microorganisme, plante și animale. Totuși, se poate obține practic o creștere ereditară a rezistenței față de aproape toate substanțele cu acțiune bacteriostatică sau chiar bactericidă.

Dobîndirea rezistenței este însoțită de modificări complexe de natură fiziologică și morfologică. La formele rezistente la sulfamide apar căi noi de sintetizare a metioninei și a unor purine. Stafilococii rezistenți la penicilină capătă de obicei dimensiuni mai mari, suferă modificări de pigmentație, dobîndesc capacitatea de a sintetiza unii aminoacizi etc. Klimek a putut realiza, de exemplu, sub influența penicilinei, transformarea unui stafilococ într-un bacil Gram-negativ. La multe bacterii se observă modificări ale activității enzimatice, ale compoziției chimice etc. Modificări atît de complexe nu pot fi atribuite modificării unor gene izolate care determină rezistența față de antibioticul respectiv.

Dobîndirea rezistenței față de antibiotice, mai ales în cazurile cînd rezistența se instalează mai lent, nu are loc, așa cum o cere teoria morganistă, prin apariția imediată a unor forme la care acest caracter se transmite în mod ereditar, ci de cele mai multe ori apar la început forme mai puțin adaptate, la care sub influența antibioticului rezistența se întărește în mod gradat, pînă cînd apar (de obicei prin salt) forme cu un grad înalt de rezistență față de antibiotic, rezistență pe care o păstrează ereditar.

Pe lîngă influența specifică a antibioticului, un rol important în instalarea ereditară a rezistenței la antibiotice le revine fenomenelor de selecție, eterogenități populației inițiale, ca și mediului în care se exercită acțiunea antibioticului respectiv. Rezistența la antibiotice depinde de starea fiziologică a celulei, de nutriția ei (în prezența unor aminoacizi, de exemplu, se mărește sensibilitatea la penicilină) etc. Toți acești factori nu pot micșora însă rolul antibioticului ca factor determinant în instalarea fenomenului de rezistență.

Scanned with OKEN Scanner

Obţinerea unor tulpini rezistente la diferite substanţe nocive a găsit o aplicaţie practică şi în industrie. Prin adaptarea unor bacterii şi ciuperci la diferite antiseptice, ele au putut fi cultivate în prezenţa acestora şi în condiţii de producţie, evitînd astfel în mare măsură infectarea produselor cu alte microorganisme. Astfel P. S. Segal a adaptat în acest scop *Aspergillus oryzae* la formol, Longhinova a obţinut diferite rase de drojdii rezistente la bioxid de sulf, iar Verbina, tulpini de drojdii rezistente la cetilpiridină. Adaptarea la aceste antiseptice nu micşorează capacitatea de fermentare a drojdiilor în comparaţie cu tulpina de origine, în timp ce cantitatea de alcool produsă creşte mult, datorită lipsei unor microorganisme concurente.

Experienţe analoge de adaptare s-au făcut faţă de alcool etilic şi unii acizi organici, a căror acumulare în cantităţi mari în mediul de cultură, opreşte deseori dezvoltarea culturilor de care sînt produse. Pe această cale Saenko a obţinut tulpini de drojdii rezistente la concentraţii mari de alcool (de la 14,5% la 17,5%), tulpinile adaptate dînd vinuri mai tari şi de o calitate mai bună. Ele sînt mai active din punct de vedere biochimic, cresc mai bine în prezenţa unor concentraţii mai mari de alcool decît în concentraţii mici şi o parte din ele au transmis ereditar caracterele dobîndite. Medvinskaia a adaptat bacteria acetică *B. Schützembacherii* la alcool etilic şi acid acetic, obţinînd în condiţii industriale cantităţi mai mari de acid acetic. Aceeaşi autoare recomandă utilizarea în industria fermentaţiei lactice, glicolice şi butirice a unor tulpini rezistente la bacteriofagii care atacă speciile respective, cauzînd adesea pagube mari în cursul procesului de producţie. Tulpini de Actinomicete cu rezistenţă dobîndită faţă de actinofag se utilizează şi în producerea streptomicinei.

Adaptări transmisibile ereditar s-au obţinut şi în funcţie de pH-ul mediului de cultură, presiunea osmotică, aerobioză şi anaerobioză etc. Date interesante în această privinţă au fost obţinute şi de Muromţev şi Rotmistrov. S. N. Muromţev (152) bazîndu-se pe ipoteza mai veche a lui Hudiakov cu privire la formele aerobe ale bacteriilor anaerobe, a reuşit să adapteze la aerobioză anaerobii obligatori *Cl. tetani* şi *Cl. welchii*. Bacilul tetanic adaptat la condiţii aerobe îşi păstrează în cursul primelor treceri caracterele biochimice şi de patogenitate, ulterior însă el îşi modifică pro-

prietățile, apropiindu-se de bacilii sporulați aerobi ca *B. mezentericus* și alte specii apropiate de acesta. *Cl. welchii* își schimbă și el în urma adaptării la aerobioză, proprietățile fiziologice și patogenitatea. Rotmistrov a adaptat și el bacterii celulozice și butirice anaerobe la aerobioză. Formele obținute nu mai pot fi considerate ca aparținînd genului *Clostridium*. Rezultate analoge au fost obținute de Breder la *Amylobacter* și de Sturm la *Vibrio desulfuricans*. Rezultatul invers, de adaptare a unui aerob strict la forme care se pot dezvolta și în anaerobioză, a fost obținut pe *Azotobacter agile* (Fedorov) și la alte cîteva bacterii.

Rezultate practice importante au fost obținute și prin adaptarea microorganismelor la diferite specii de plante și animale. Una din metodele cele mai uzuale de atenuare a virulenței constă în trecerea pe animale improprii dezvoltării speciei respective (în agricultură se tinde de exemplu tot mai mult la adaptarea tulpinilor de *Azotobacter*, care vor servi ca îngrășămînt, la diferite specii de plante agricole).

Rezultatele cele mai importante s-au obținut însă în privința variabilității dirijate a virusurilor, care au putut fi adaptate nu numai la diferite animale, embrionul de ou etc., dar și la diferite țesuturi și organe ale aceluiași organism (acest fapt explică și originea virusurilor neurotrope, pneumotrope, dermotrope etc.).

Practica profilaxiei virozelor se bazează mai ales pe utilizarea unor virusuri ale căror proprietăți au fost modificate prin creșterea pe diferite organisme și țesuturi. Virusul vaccinei obținute de Jenner provine de la bovine; vaccinarea antirabică introdusă de Pasteur se bazează și ea pe adaptarea virusului turbării („de stradă") la iepure, el transformîndu-se în „virus fix" etc.

În ultimul timp, s-a acumulat un material deosebit de bogat cu privire la variabilitatea virusului gripal, a virusului febrei galbene ca și a diferitelor virusuri fitopatogene. Pentru a ilustra cît de specifice pot fi uneori aceste adaptări ereditare ale virusurilor, redăm datele lui A. T. Kravcenko (107) cu privire la adaptarea virusului encefalitei japoneze la țesutul tumoral. Acest virus inițial neurotrop începe, după a 4-a — 5-a trecere pe tumori de șoareci, să nu se mai localizeze în creierul șoarecilor, ci exclusiv în tumori. După mai multe treceri pe tumori, virulența sa pentru șoareci începe să scadă, el

adaptîndu-se complet la ţesutul tumoral. în acelaşi timp însă, el îşi pierde şi proprietăţile imunogene faţă de infecţia iniţială (îşi schimbă structura antigenică), astfel că pentru obţinerea unor tulpini imunogene, autorii au trebuit să se oprească la primele treceri.

Cele mai multe lucrări de variabilitate microbiană experimentală s-au făcut în legătură cu studiul aşa-numitei variabilităţi „spontane" de laborator. în urma îmbătrînirii culturilor, în special pe medii lichide, în urma însămînţării pe medii de cultură necorespunzătoare sau din alte cauze, uneori foarte greu de sezisat, se obţin adesea modificări ereditare, care nu au aparent nici o legătură cu agentul care le-a produs. Din această categorie fac parte modificările legate de procesul de disociaţie, ca şi alte modificări mari, foarte profunde, ale unor caractere fiziologice şi morfologice. La *Lactobacillus plantarum* de exemplu, forma „R" nu fermentează glucoza, arabinoza, lactoza şi rafinoza, în schimb însă, poate utiliza mai bine unele substanţe azotate, astfel că se poate dezvolta pe medii lipsite de zaharuri, pe care forma „S" nu creşte. în urma cultivării pe medii de cultură de laborator, la *Serratia marcescens, B. mycoides, Azotobacter* şi alte bacterii, au apărut variante fiziologice şi morfologice din cele mai diferite. Creşterea în condiţii de viaţă improprii influenţează adesea virulenţa bacteriilor patogene (unele tulpini astfel modificate, care şi-au păstrat proprietăţile imunogene, au putut fi utilizate ca vaccinuri vii). Cele mai multe vaccinuri bacteriene vii s-au obţinut pînă acum prin cultivarea pe medii improprii şi sub influenţa unor factori nocivi. Pe această cale a obţinut Pasteur, prin acţiunea temperaturii înalte, vaccinul cărbunos atenuat, în urma cultivării repetate pe mediu impropriu cu bilă, s-a obţinut B.C.G.-ul, apoi vaccinul antipestos (în urma disociaţiei, ca şi a acţiunii bacteriofagului etc.).

Deseori în cursul variabilităţii de laborator apar fenomene de convergenţă a caracterelor. S-a observat adesea că în cursul procesului de disociaţie, în culturi bătrîne, în organismul imun, sub influenţa bacteriofagului, pe medii sărace etc., apar variante cu trăsături comune. De exemplu, transformarea *Pasteurella pestis* în pasteurella pseudotuberculozei rozătoarelor a fost realizată de Bezsonov, Pokrovski, Jukov-Verejnikov ş.a., atît sub acţiunea bacteriofagului, cît şi în urma izolării unor variante din culturi bătrîne ; pierderea capa-

citării de a fermenta lactoza apare la *E. coli* în cele mai diferite condiții de viață etc.

Existența fenomenelor de convergență a servit multor cercetători morganiști și ciclogeniști ca argument principal pentru concepția despre „spontaneitatea" variabilității de laborator și a independenței ei de mediu. Din aceste motive, analiza cauzelor care duc la fenomenele de convergență și la variabilitatea „spontană" de laborator capătă o importanță teoretică deosebită. Importanța analizei cauzelor variabilității „spontane" de laborator nu este însă numai teoretică, ea ne poate indica în același timp și căile pentru trecerea de la rețete oarecum empirice (ca creșterea pe medii defavorabile, temperaturi improprii etc.) pentru obținerea în condiții de laborator a unor bacterii cu virulență atenuată sau cu alte proprietăți utile, la metode mai eficace bazate pe aplicarea conștientă a legilor generale ale variabilității.

Ca o exemplificare a importanței practice și teoretice a găsirii unor explicații raționale a fenomenelor de „variabilitate spontană", redăm unele cercetări făcute în legătură cu variabilitatea disociativă, care a fost considerată de mulți cercetători ca principala formă de variabilitate a microorganismelor. În același timp, tocmai în domeniul variabilității disociative, diverși cercetători ciclogeniști și morganiști au căutat să arate „spontaneitatea" acestui tip de variabilitate și independența sa de mediu.

Plecînd de la fenomenele de convergență a caracterelor descrise mai sus, P. Hadley (59), (60) a ajuns la concluzia că fenomenul de disociație se reduce la un ciclu închis de modificări, care decurg în sensul succesiunii tipurilor de colonii „M"—„S"—„R" și al caracterelor care le corespund și care poate dura un număr mare de generații (ulterior schema s-a complicat prin descrierea unor colonii cu caracter intermediar, colonii „G", „L" etc.). El consideră că acestea apar întotdeauna în aceeași ordine, independent de mediu, care poate numai accelera apariția lor. Caracterele acestor forme apărute independent de mediu sînt întotdeauna aceleași, fenomenul de disociație nefiind de fapt un fenomen de variabilitate, ci corespunde numai fazelor unui ciclu evolutiv, al unor specii care rămîn în esență neschimbate.

Hadley își bazează concepția sa mai ales pe studiul formelor „R" și „S" ale bacteriilor patogene.

Scanned with OKEN Scanner

Astfel formele „S“ ale majorității bacteriilor patogene se caracterizează prin colonii netede, bombate, cu margini egale pe medii solide, tulburarea egală a bulionului, formare de suspensii stabile în ser fiziologic, activitate biochimică mărită, patogenitate și activitate antigenică mai pronunțate, sensibilitate la bacteriofag, disociere în prezența serului anti „S“ etc. Formele „R“, la rîndul lor, se caracterizează prin colonii rugoase, îngroșate, cu margini inegale pe medii solide, formarea unui depozit în bulion, lipsa unor componente antigenice existente la formele „S“, virulență și activitate biochimică mai mică.

Un număr mare de date găsite de diferiți cercetători au arătat că nu se poate atribui o valoare absolută nici ordinei presupuse de Hadley în apariția fazelor de disociație, și nici legăturii obligatorii în variația diferitelor caractere în cursul procesului de disociere.

Cercetările făcute de N. N. Glezerova (53), (54) au arătat că schema lui Hadley nu poate fi aplicată decît la pneumococi și la un număr mic de alte bacterii. În cazul bacililor tific, paratific și difteric de exemplu, succesiunea apariției variantelor poate fi uneori cu totul diferită. Astfel, se poate observa deseori nu numai trecerea „M“—„S“—„R“, dar și trecerile „S“—„M“, „R“—„M“ etc.

Studiul caracterelor antigenice și al virulenței formelor „S“ și „R“ ale bacilului tific a arătat că atît între coloniile „S“, cît și între coloniile „R“ există deseori deosebiri mari în privința virulenței, imunogenității și a activității biochimice. Aceste caractere pot varia în mod independent de forma coloniilor, existînd colonii „R“ mai virulente, mai imunogene și mai active din punct de vedere biochimic, decît coloniile „S“.

Vedem deci că fenomenul de convergență a caracterelor nu are valoarea absolută pe care i-o atribuie Hadley.

Alte cercetări efectuate de Glezerova au putut arăta că prin disociația bacilului difteric se poate ajunge la forme stabile de bacili pseudodifterici identici cu *B. hoffmann*. Prin disocierea cocobacilului pestei și a B. tularemic și a altor bacterii, s-au obținut variante stabile etc. Aceste fapte, ca și multe alte fapte analoge găsite de diferiți cercetători, indică mai degrabă existența unor fenomene de variabilitate ereditară, decît a unui ciclu închis.

Aceste cercetări infirmă deci teoria lui Hadley despre fazele de disociație ca o succesiune regulată de forme în care

se schimbă totdeauna aceleaşi caractere, arătînd că fenomenul de disociaţie este o formă a variabilităţii ereditare a microorganismelor, caracterele apărute putînd varia în funcţie de condiţiile mediului şi de proprietăţile bacteriei. Aceste modificări duc uneori la forme foarte stabile, iar alteori pot servi ca punct de plecare pentru noi modificări ereditare [1]). Deosebirile frecvente între formele „S“ provenite din forme „R“ (originare la rîndul lor din forme „S“) şi formele „S“ iniţiale, arată şi ele, că şi în cazurile existenţei unor cicluri închise ca acele presupuse de Hadley, acest ciclu este deseori numai aparent.

Cercetările făcute de N. N. Glezerova, A. S. Krivinski (111) şi ale altor autori au putut infirma şi concepţiile lui W. Braun (14) şi ale altor morganişti, despre disociaţia bacteriilor ca un fenomen de mutaţie spontană care apare independent de mediu, mediul neavînd alt rol decît cel de a selecţiona mutantele spontan apărute. Aceşti autori au arătat că atît apariţia, cît şi natura variantelor, depind de influenţa specifică a mediului.

Apariţia frecventă a fenomenului de disociaţie pe medii de cultură artificiale se datoreşte necorespunderii acestor medii cu cerinţele naturale ale speciilor respective. Krivinski a putut dovedi printr-o serie de exemple că variantele apărute pe medii de cultură artificiale nu apar în mod întîmplător, ci în funcţie de anumiţi factori din mediu. El a arătat că la colonii „R“, respectiv „S“, aparent identice, se pot constata proprietăţi diferite în funcţie de condiţiile de mediu în care au apărut.

Krivinski a putut arăta astfel la o tulpină de *E. coli*, că ea disociază M → S → R atît pe bulion, cît şi pe geloză, însă variantele „S“ şi „R“ obţinute pe bulion au proprietăţi diferite de variantele „S“ şi „R“ obţinute pe mediu solid, fiecare din aceste variante fiind adaptată la condiţiile de viaţă de pe mediul respectiv.

Viteza de creştere a variantei « S » obţinute pe bulion este mai mare în mediu lichid decît a variantei « M » de origine, în timp ce pe mediu solid,

---

[1]) Plecînd de la variante « R » nestabile, obţinute în primele faze ale procesului de disociaţie, Krivinski a putut obţine prin adaptare şi selecţie variante stabile.

viteza de creştere a variantei obţinute pe bulion este identică cu a variantei « M ». În schimb, varianta « M — S » care apare în culturile bătrîne pe geloză, este mai bine adaptată la creşterea pe mediu solid, decît varianta corespunzătoare crescută pe bulion.

Variantele « R » apărute în bulion se deosebesc şi ele de variantele « R » obţinute pe geloză, fiecare din ele fiind mai bine adaptată la mediul respectiv. Varianta « R » apărută în bulion în primele faze ale disociaţiei, deşi mai bine adaptată la epuizarea mediului de cultură şi acumularea de metaboliţi decît varianta « S », este totuşi mult mai puţin adaptată la condiţiile de viaţă în bulion decît variantele « R » apărute ulterior. Deci şi în cazul variantelor « R », aparent identice, apărute pe acelaşi mediu, există o adaptare şi o selecţie continuă în funcţie de noile condiţii de viaţă.

La o altă tulpină de *E. coli*, durata fazei de lag a variantelor „R" depinde de frecvenţa însămînţărilor. În cazul în care trecerile se fac la intervale mici (din 6 în 6 ore), se obţin forme cu un ciclu de dezvoltare accelerat ; dacă trecerile se fac la intervale de timp mai mari, se obţin variante „R" cu un maximum de creştere de 2—3 zile.

Diferitele variante apărute sub influenţa mediului posedă deci caractere specifice în funcţie de factorii din mediu care au dus la apariţia lor, cu toate că după forma coloniilor ele par identice.

Importanţa condiţiilor în care se obţin variantele „R" şi „S" a fost subliniată şi de Imşeneţki, care a constatat că variantele obţinute în condiţii de laborator mai apropiate de condiţiile naturale de viaţă ale microorganismelor sînt mai active din punct de vedere biochimic decît variantele „R" şi „S" aparent identice, obţinute sub influenţa unor factori cu acţiune puternică, raze X, ultraviolete etc.

Faptul că variantele „R" şi „S" pot avea proprietăţi diferite în funcţie de condiţiile în care au apărut, nu este important numai pentru microbiologia medicală, unde în prepararea vaccinurilor şi a altor preparate biologice se ţine seama în mod curent de faza de disociaţie, dar şi în microbiologia agricolă şi industrială.

După datele obţinute în laboratorul lui Imşeneţki, variantele „S" ale bacteriilor acetono-etilice produc mai multă acetonă şi variantele „R" ale bacteriei acetice *Acetobacter suboxidans*, oxidează mai activ sorbita în sorboză, decît formele „S". Acelaşi fenomen s-a observat şi la alte bacterii acetice, ca şi în cazul producerii de amilază de către *Aspergillus niger*.

Toate aceste date arată importanţa cunoaşterii precise a condiţiilor în care are loc procesul de disociaţie.

Scanned with OKEN Scanner

Studiul fenomenelor de disociație microbiană a arătat deci că, în cazul unor variații aparent independente de mediu, se poate stabili natura adaptativă a acestora prin analiza mai amănunțită a condițiilor în care apar.

Fenomenele de convergență care apar pe lîngă fenomenele de adaptare specifică, atît în variabilitatea disociativă, cît și în alte forme de variabilitate de laborator și care nu pot fi despărțite în mod artificial de ele, se pot datora unor cauze diferite ; uneori explicația poate fi găsită prin apariția unor caractere recesive, alteori, cum se întîmplă probabil în cazul formelor „R“ la bacterii patogene, metabolismul lor mai puțin intens le apără de cei mai diverși factori nocivi din mediu. Apariția frecventă a unui anumit tip de modificări se datorește probabil și evoluției filogenetice a speciilor respective, care determină ca unele caractere să poată apărea mai ușor decît altele. Fenomenele de convergență nu pot fi totuși considerate ca fenomene de sine stătătoare, ci mai degrabă ca unul din aspectele unui tot unitar, în care sînt strins îmbinate elemente comune unui număr mare de modificări ereditare cu elemente specifice.

De aceea pentru înțelegerea fenomenelor de variabilitate de laborator trebuie făcut un studiu complex al microorganismelor respective, care să cuprindă analiza cerințelor specifice față de mediu, studiul condițiilor lor naturale de viață, a filogeniei speciei respective etc.

Ținînd seama de toți acești factori, studiul variabilității „spontane“ de laborator, arată că ea este la fel de puțin „spontană“ ca și toate celelalte modificări în funcție de mediu, metodele variabilității de laborator putînd fi considerate și ele ca metode de aclimatizare la modificarea mediului.

Exemplele redate pînă acum ilustrează desigur numai în mod fragmentar, posibilitățile mari pe care le oferă aplicarea conștientă la microorganisme a metodei aclimatizării. Din cauza influențării ușoare a metabolismului microorganismelor și din cauza vitezei lor mari de înmulțire metoda aclimatizării a dat pînă acum cele mai importante rezultate dintre toate metodele de influențare a eredității microorganismelor. Dezvoltată pe baza concepției miciuriniste, ea rămîne desigur și mai departe una din principalele metode pentru transformarea naturii microorganismelor.

Scanned with OKEN Scanner

Metoda hibridării sexuate apropiate și îndepărtate a fost mult mai puțin aplicată în microbiologie decît în agricultură și zootehnie. La microbi nu s-a putut dovedi pînă acum cu siguranță existența unui proces sexual, iar la drojdii, la care s-a descris un proces sexual, nu s-au făcut decît încercări izolate în această privință. Dintre încercările de hibridare sexuată la drojdii amintim pe cele ale lui Kosikov (97) cu privire la hibridarea drojdiei *Saccharomyces elipsoideus*, care fermentează maltoza și zaharoza cu *S. globosus*, care nu fermentează aceste zaharuri. În urma procesului de hibridare, Kosikov a reușit să obțină pe lîngă hibrizi care fermentează atît maltoza, cît și zaharoza, și hibrizi care fermentează numai maltoza, proprietate care a găsit o aplicație practică în industrie. Kosikov a arătat că disjuncția caracterelor fermentative în a doua generație, neurmînd legile lui Mendel, depinde de mediul în care apare cea de a doua generație, proporțiile putînd fi 2 : 2; 3 : 1 și chiar 4 : 0. O disjuncție analogă a caracterelor în funcție de mediu a fost constatată și la hibrizii *S. carlsbergensis* și *S. globosus* ca și la hibrizii *S. carlsbergensis* și *S. chodat*. Prin această experiență Kosikov infirmă ipotezele lui Spiegelman și Lindgreen, ca și pe cele ale lui Winge, despre degregarea mendeliană a caracterelor la drojdii.

Un material mult mai bogat s-a acumulat însă în legătură cu procesele de hibridare vegetativă la microorganisme și în special la bacterii (82), (191).

Ca și în cazul experiențelor de aclimatizare, primele observații asupra hibridării vegetative a microorganismelor s-au făcut încă la sfîrșitul secolului trecut.

În perioada primelor încercări de punere la punct a diagnosticului serologic al febrei tifoide, Vidal a remarcat aglutinarea unor tulpini de *E. coli* de către serul bolnavilor de febră tifoidă.

Identificarea fenomenelor de aglutinare a unor bacterii de către serurile specifice față de alte specii (paraaglutinare) sau a dobîndirii proprietăților unor specii de microorganisme de către alte specii, cu fenomenele de hibridare vegetativă, a fost făcută însă abia de Gamaleia (41) în 1946 și de Muromțev (1949).

În mod analog cu procesele descrise la plante și animale, ei numesc hibridare vegetativă dobîndirea de către o specie de microorganisme a caracterelor altor specii, sub influența sub-

stanțelor elaborate de aceasta. Fenomenele de hibridare vegetativă pot avea loc însă și în cadrul aceleiași specii, între tulpini care au proprietăți biochimice, serologice și culturale diferite.

Fenomenul de hibridare vegetativă prezintă însă la microorganisme o serie de trăsături caracteristice, care îl deosebesc de procesele analoge de la plante și animale.

La plante, hibridarea vegetativă este un proces artificial, care nu există în natură și se produce numai prin altoire. Pe această cale se ajunge la obținerea unor hibrizi cu caractere comune ambilor părinți. În felul acesta se pot obține și forme care nu pot fi realizate prin hibridare sexuată sau prin influența directă a mediului. În afară de aceasta, în urma procesului de hibridare vegetativă se obține o zdruncinare a eredității hibrizilor care devin mai plastici și mai ușor accesibili unei educări ulterioare.

La microorganisme, procesul de hibridare se realizează în mod continuu în natură, microorganismele trăind în majoritatea cazurilor în biocenoze. De aceea studiul proceselor de hibridare vegetativă la microorganisme se referă, pe de o parte, la explicarea unor modificări ale microorganismelor în mediul lor natural și pe de altă parte, la producerea experimentală a unor hibrizi vegetativi.

Alte trăsături ale procesului de hibridare vegetativă, ca posibilitatea de a realiza într-un timp relativ scurt modificări care nu pot fi obținute decît cu greu prin metoda aclimatizării, zdruncinarea eredității și posibilitatea apariției unor caractere noi, care nu au existat la nici unul din parteneri, sînt comune hibridării vegetative la plante superioare și microorganisme. Ca și la plante, în urma procesului de hibridare vegetativă, se poate realiza dobîndirea unor caractere de la specii foarte îndepărtate (V. holeric poate împrumuta caractere de la B. tific, stafilococul de la B. dizenteric, streptococul de la B. difteric etc.).

O altă caracteristică a fenomenelor de hibridare vegetativă la microorganisme este faptul că ele pot fi realizate și cu extracte din corpi bacterieni, cu corpi bacterieni morți și cu filtrate de culturi vechi, pe cînd la plantele superioare, procesul de hibridare vegetativă nu s-a realizat pînă acum decît între două organisme vii. După Kosikov, această deosebire nu ar fi însă esențială, căci în ambele cazuri intervin substanțele

plastice elaborate de celălalt partener. Concepţia lui Kalina (82) care susţine că în cazul hibridării vegetative la microorganisme are loc în toate cazurile o interacţiune a două organisme vii, hibridarea făcîndu-se prin pătrunderea în microorganismul respectiv a formelor filtrabile ale celuilalt partener, nu a fost însuşită de Streşinski şi alţi cercetători.

Kalina introduce în descrierea fenomenelor de hibridare vegetativă la microorganisme termenul de mentor. El consideră (ca la plante) ca mentor microorganismul cu ereditate mai stabilă sau ai cărui produşi de metabolism predomină în mediul de cultură, imprimînd proprietăţile sale microorganismului de educat. Kalina nu consideră caracterul de mentor şi de microorganism de educat ca fiind absolute, mentorul suferind şi el influenţa microorganismului educat şi rolul de mentor putînd varia într-o biocenoză în funcţie de condiţiile de mediu. El dă tulpinii care a suferit influenţa microorganismului mentor denumirea de „paratulpină“ în analogie cu termenul de paraaglutinare (dobîndirea aglutinabilităţii proprii unei alte specii sau unui alt tip serologic). Kalina numeşte toate caracterele dobîndite în cursul procesului de hibridare vegetativă „paracaractere“.

Desigur că interrelaţiile dintre microorganisme nu se pot reduce numai la interrelaţii de hibridare vegetativă, alte procese, ca influenţarea reciprocă a nutriţiei, inhibiţia creşterii sub influenţa unor antibiotice etc. influenţînd în mod continuu compoziţia biocenozelor de microorganisme. Aceste interrelaţii pot influenţa procesele de hibridare vegetativă la fel cum procesele de hibridare vegetativă pot influenţa relaţiile de antagonism sau simbioză între microorganisme. Kalina a arătat, de ex., că prin dobîndirea de către o tulpină de *E. coli*, iniţial puternic antagonistă faţă de B. dizenteric, a unor caractere de la B. dizenteric, ea devine mai puţin antagonistă faţă de acesta.

În cazul proceselor de hibridare vegetativă, trebuie ţinut seama şi de posibilitatea dobîndirii unor proprietăţi fermentative prin absorbţia de fermenţi (163), ca şi de un număr mare de alţi factori. De aceea, procesele de hibridare vegetativă la microorganisme (la fel ca procesele de hibridare vegetativă la plante) nu pot fi cuprinse în formule simple, ci trebuie ţinut seama de întreaga complexitate a fenomenului.

Din cauză că la microorganisme procesul de hibridare poate fi realizat atît prin interacţiunea unor microorganisme vii,

Scanned with OKEN Scanner

cît și sub influența unor compuși ai corpului bacterian, metodele utilizate pot fi împărțite și ele în două categorii : *a)* metode în care se recurge la interacțiunea unor microorganisme vii ; *b)* metode în care se utilizează compuși proveniți din corpii bacterieni sau corpi bacterieni morți. Între cele două grupe de metode nu există deosebiri esențiale, compușii care se obțin din extractele microbiene sau din filtratele culturilor microbiene avînd un rol important și în interacțiunea microorganismelor vii.

Dintre metodele în care se utilizează interacțiunea unor microorganisme vii, amintim inocularea la animale a două microorganisme diferite (uneori fiind introduse în saci de colodiu sau de alt material semipermeabil). S-a recurs și la introducerea de saci de colodiu în sol nesteril. Metodele de cultivare a două microorganisme pe medii de cultură artificiale se rezumă și ele fie la cultivarea lor liberă în amestec, fie la separarea lor spațială prin membrane semipermeabile sau filtre Chamberland, care permit schimbul de substanțe, însă nu permit trecerea microorganismelor dintr-un compartiment în celălalt.

Metodele de hibridare în care se recurge la interacțiunea a două microorganisme vii dau în general rezultate pozitive într-un timp scurt, însă prezintă dezavantajul că în cazul contactului liber între microorganisme nu se poate stabili totdeauna originea microorganismului modificat, iar în cazul cînd se recurge la pereți despărțitori, aceștia pot reține factori importanți, care intervin în procesul de hibridare.

Metodele în care numai unul din parteneri este un microorganism viu constau în cultivarea acestuia pe extrase microbiene și filtrate de culturi microbiene sau în prezența corpilor microbieni omorîți prin diferite metode (căldură, raze ultraviolete, factori chimici etc.). Corpii microbieni omorîți pot fi incluși în medii lichide sau solide sau pot fi introduși în cantități mari în animale de experiență cărora ulterior li se inoculează microbul de modificat (metoda Griffith).

În cursul utilizării acelor metode trebuie ținut seama și de o serie de condiții speciale, ca vîrsta culturii, mediul de cultură, temperatura etc.

Primele observații asupra unor fenomene de hibridare vegetativă au fost făcute la tulpini izolate de la bolnavi de febră tifoidă (V i d a l), dizenteric (D u v a l ș.a.), holeră etc. Datorită importanței mari în diagnosticul bolilor infecțioase a reac-

ției de aglutinare și a modificărilor, relativ ușor de realizat, ale caracterului de aglutinabilitate, primele observații asupra dobîndirii proprietăților unor bacterii de către altele au privit mai ales dobîndirea caracterului de aglutinabilitate. Primii cercetători care au analizat mai în de aproape acest fenomen au fost Ph. Kuhn și A. Woite (115), care au introdus și termenul de paraaglutinare. Ei erau însă de părere că paraaglutinarea se datorește exclusiv influenței anticorpilor din macroorganism, lucru pe care nu l-au putut dovedi experimental. Ulterior, au mai fost descrise în repetate rînduri (în special la *E. coli,* dar și la diferiți coci, *B. proteus,* bacili Gram-pozitivi aerobi și anaerobi, vibrioni, etc.), tulpini paraaglutinabile de către serul bolnavilor de febră tifoidă, paratifoidă și mai ales de dizenterie. Apariția formelor paraaglutinabile, ca și titrul aglutinării lor de către serul specific sînt adesea strîns legate de evoluția bolii și mai ales de reactivitatea macroorganismului (care determină condițiile în care are loc interacțiunea microorganismelor din cavitatea intestinală). Astfel Kalina arată că în febra tifoidă, în a treia săptămînă de boală, se pot izola de două ori mai multe forme paraaglutinabile decît în a doua săptămînă. În dizenterie izolarea de tulpini paraaglutinabile se face mai ales în cazurile cronice. Cel mai frecvent însă, se pare că ele se izolează în colitele și enteritele atipice ale copiilor mici, unde prezența lor ar avea, după părerea unor autori, un rol important în evoluția bolii. Izolarea frecventă de tulpini atipice, paraaglutinabile, în infecțiile intestinale, a determinat pe Kalina, Grinbaum și alți autori să considere izolarea lor ca o indicație indirectă importantă a prezenței agentului patogen.

O importanță deosebit de mare se acordă studiului tulpinilor paraaglutinabile izolate de la bolnavii de tifos exantematic. De la acești bolnavi s-au izolat diferiți coci, bacili anaerobi, B. piocianic etc., care sînt aglutinați de către serurile lor. O parte din aceste tulpini (unele tulpini de B. piocianic de exemplu), păstrează acest caracter în mod constant. Frecvența izolării de tulpini paraaglutinabile depinde și în această boală de starea macroorganismului, ele izolîndu-se mai ales de la bolnavi epuizați și subalimentați. Dintre toate tulpinele paraaglutinabile izolate de la bolnavi de tifos exantematic, cel mai bine au fost studiate de Weil și Felix unele tulpini de *B. proteus,* a căror aglutinabilitate se păstrează de peste 30 de ani. *Proteus* X_{19} este astăzi

întrebuințat în toate laboratoarele de bacteriologie medicală pentru diagnosticul tifosului exantematic.

Cercetările experimentale de hibridare vegetativă au putut clarifica într-o bună măsură cauzele apariției formelor paraaglutinabile, ca și dobîndirea diferitelor caractere biochimice, culturale și de patogenitate, dobîndite de la alte microorganisme în condițiile de mediu natural.

Dintre experiențele făcute în acest sens, citățm pe acele ale lui L. Zilber (216), care a introdus saci de colodiu cu *Proteus vulgaris* în cavitatea peritoneală a unor cobai infectați cu tifos exantematic, obținînd după a doua trecere o tulpină denumită de el *Proteus* X_v cu proprietăți foarte asemănătoare cu cele ale Proteului X_{19} și care și-a păstrat în mod stabil caracterele dobîndite. Tulpini de *Proteus* paraaglutinabile de către serul bolnavilor de tifos exantematic au putut fi izolate și de Minervin și Soțkaia, prin inocularea lor intratesticulară la animale infectate cu tifos exantematic.

Cercetările lui Griffith cu privire la transformările tipurilor de pneumococi, efectuate și ele mai întîi pe animale de experiență, a provocat apariția unui număr mare de lucrări ulterioare, care au adus precizări importante în unele aspecte ale mecanismului hibridării vegetative. Inoculînd subcutan la șoareci pneumococi „R" avirulenți concomitent cu un vaccin preparat din pneumococi omorîți prin căldură, fie de același tip, fie de alt tip, Griffith a putut să transforme pneumococii „R" în forme „S" de tipul pneumococilor din care a fost obținut vaccinul. Aceeași transformare s-a putut realiza ulterior și *in vitro* cu vaccin preparat din culturi „S" omorîte prin căldură și prin utilizarea de extracte din pneumococi în forma „S". A. Avery și colaboratori (6) au găsit că principiul activ al transformărilor tipurilor de pneumococi este acidul dezoxiribonucleic.

Dintre multiplele experiențe de hibridare vegetativă făcute *in vitro*, amintim pe cele ale lui Busson, care a cultivat *E. coli* în cultură mixtă cu stafilococ, ca și în prezența de culturi omorîte, obținînd o apropiere serologică a acestuia de stafilococ.

Prin introducerea unor saci de colodiu cu *B. proteus* suspendat în ser fiziologic, în culturi în mediu lichid de B. tific, Zilber obține culturi de *B. proteus*, cu caractere antigenice co-

mune cu B. tific și care imunizează iepurii față de acesta din urmă.

Utilizînd o metodă asemănătoare cu cea a lui Zilber, Ermolieva și Bulianovskaia au obținut, în funcție de condițiile experimentale, fie dobîndirea capacității de a fermenta unele zaharuri (în experiențele făcute cu *Alcaligenes faecalis*), fie pierderea capacității de a fermenta zaharurile (de exemplu la V. holeric).

I. Cantacuzino și O. Bonciu (21) au obținut tulpini de streptococi hemolitici aglutinabile de serurile bolnavilor de scarlatină, prin cultivarea lor în filtrat de urină sau de exudat faringian al bolnavilor de scarlatină.

În cursul proceselor de hibridare vegetativă se pot observa uneori, la bacterii care au dobîndit unele caractere de la tulpini patogene, o creștere a virulenței, modificarea sensibilității față de bacteriofag, modificări de activitate biochimică etc. Aceste modificări pot fi uneori atît de importante, încît paratulpina nu mai poate fi deosebită de tulpina mentor. Kalina vorbește în aceste cazuri de o „mascare" a tulpinilor, el considerînd aceste tulpini ca fiind deseori etape în cursul trecerii spre alte specii.

Procesele de hibridare vegetativă, studiate inițial aproape exclusiv în legătură cu bacterii patogene pentru om sau animale, au început să fie studiate ulterior și la alte specii de microorganisme. Dintre experiențele de acest fel citățm pe cele ale lui Krasilnikov (100) care, în urma cultivării mai îndelungate (2—7 luni) a unor specii de *Rhizobium* pe filtratele altor specii, a reușit să le inducă virulența specifică a mentorului. Încercînd să obțină aceeași transformare la 28 de tulpini aparținînd altor genuri decît *Rhizobium*, autorul a reușit să obțină formarea de noduli la două specii de *Pseudomonas*, proprietate care s-a putut păstra numai în cazul trecerilor pe rădăcinile plantelor respective. Coleman și Reid au reușit să inducă la tulpini „S" de *Alcaligenes radiobacter* proprietăți antigenice comune cu tulpini „M" de *Phytomonas tumefaciens*.

În ultimul timp s-au obținut și date cu privire la procese de hibridare vegetativă la ciuperci. R. V. Fenixova (35) de exemplu, nereușind să obțină o creștere durabilă a activității amilazice la *Aspergillus niger* prin cultivarea sa în prezența unor concentrații mari de amidon, a recurs la cultivarea sa timp de 2—3 luni pe extrase de *Aspergillus oryzae*, care prezintă o activitate amilazică puternică. În felul acesta, autoarea a obținut o

creştere de 2—3 ori a activităţii amilazice, ca şi alte modificări morfologice şi biochimice, modificări care s-au păstrat şi în condiţii apropiate de cele de producţie. A. A. Ţimerinov, T. I. Beznos şi S. M. Rafalovici (198), în urma creşterii ciupercii dermatofile, *Microsporium ferugineum* pe filtrate de *Microsporium lanosum* au obţinut o variantă foarte apropiată din punct de vedere morfologic de *Microsporium lanosum*. Mazur a putut să confere unor actinomicete unele proprietăţi ale bacilului tuberculos uman, iar Kosikov a obţinut tulpini de *S. globosus* cu activitatea zaharazică în urma acţiunii zaharazei extrase din alte drojdii.

Cercetările de hibridare vegetativă au arătat şi posibilitatea transformării dirijate a unei specii în alte specii existente.

Primele încercări în această privinţă au fost făcute de P. M. Graciova (56), care a cultivat timp îndelungat (făcînd treceri din 6 în 6 zile). *E. coli* în medii sintetice cu cantităţi mici de ser şi corpi microbieni de *B. typhi murium*, omoriţi prin încălzire la 60°. După un număr mare de treceri, în cursul cărora au apărut mai întîi modificări reversibile ca pierderea capacităţii de a fermenta lactoza şi apariţia unei structuri antigenice apropiată de *B. typhi murium*, *E. coli* a căpătat toate caracterele mentorului, inclusiv cel de patogenitate. Datele cercetătoarei Graciova au fost confirmate de cercetările lui Porokov (166), care a crescut *E. coli* pe un mediu format din culturi omorîte de *B. decumanicidum* şi extrase de organe parenchimatoase de şobolani, obţinînd trecerea *E. coli* în forme patogene pentru şobolani şi de cercetările lui Kalina şi Timakov, Kalina a reuşit să transforme *E. coli* în *B. typhi murium* într-un timp mai scurt decît Graciova prin selecţionarea coloniilor după gradul lor de paraaglutinabilitate şi inocularea lor ulterioară la animale sensibile. Kalina a arătat că procesul de transformare se poate realiza şi utilizînd culturi încălzîte la 100°. Reluînd în mod sistematic cercetările lui Graciova, Timakov (196), (197) obţine transformarea *E. coli* în B. tific şi paratific, trecerea B. tific în paratific, a B. tific şi B. paratific în *E. coli* etc. Timakov ajunge la rezultate pozitive şi prin cultivarea pe antigenul glucido-lipidic extras din alte specii, ca şi culturi omorîte prin autoclavare la 120°. În cursul acestor transformări, Timakov observă la primele treceri o zdruncinare a ereditătii, care se manifestă prin dobîndirea unor structuri antigenice comune cu diferite specii de En-

terobacteriacee, ca şi prin apariţia unor variante cu proprietăţi de *Alcaligenes faecalis*, o specie diferită atît de microorganismele mentor, cît şi de cele educate. Date analoge cu privire la zdruncinarea ereditătii au fost obţinute şi prin creşterea *E. coli* pe autolizate de *B. typhi murium*. Toate aceste experienţe pun problema unor transformări analoge şi în intestinul uman, unde problema este însă mult mai complexă, din cauza biocenozei formate în majoritatea cazurilor dintr-un număr mare de specii şi din cauza influenţei macroorganismului asupra întregii biocenoze din intestin.

În ultimul timp a apărut un număr tot mai mare de cercetări privind mecanismul biochimic al proceselor de hibridare vegetativă la microorganisme. Primele date în această privinţă se datoresc lui Avery şi colaboratori (6), (133), care au arătat că transformarea formei „R" de pneumococ de un tip, în forma „S" de pneumococ de alt tip se poate realiza sub influenţa acidului dezoxiribonucleic polimerizat, extras din forma „S". Acidul dezoxiribonucleic extras după metoda Avery este un compus unitar la ultracentrifugare, are greutatea moleculară de cel puţin 500 000, conţine numai urme de proteină (aproximativ 0,2%) şi poate fi inactivat de cantităţi mici de dezoxiribonuclează. Cercetări ulterioare au arătat că prin această metodă se pot realiza trecerea pneumococilor din forma „E"—„R" în „R", dobîndirea capacităţii de a sintetiza proteina specifică „M", modificări ale capacităţilor fermentative, ca şi inducerea rezistenţei faţă de antibiotice. Prin creşterea unui pneumococ „R" sensibil la sulfamide sau antibiotice în prezenţa acidului dezoxiribonucleic provenit de la un pneumococ „S", care a devenit rezistent la sulfamide sau antibiotice, forma „R" trece într-o formă rezistentă la substanţa antibacteriană respectivă.

Transformări ale unor forme „R" în forme „S" de alt tip serologic sub influenţa acidului dezoxiribonucleic au fost realizate şi la *E. coli* (Boivin), unde se modifică şi proprietăţile de a fermenta zaharoza şi de a forma indol ca şi la *Hemophilus influenzae*. Toate aceste transformări obţinute sub influenţa acidului dezoxiribonucleic s-au realizat numai în cadrul aceleiaşi specii, necesitînd şi o serie de condiţii speciale (în cazul pneumococilor prezenţa de ser sau ascită, o anumită vîrstă a culturilor, lipsa iniţială la forma „S" a polizaharidului de tip „S" etc.). Condiţiile pentru dobîndirea rezistenţei la

antibiotice pot diferi de cele necesare pentru dobîndirea polizaharidului specific.

Intervenția acidului dezoxiribonucleic în procesul de transformare a tipurilor de pneumococi a determinat pe o serie de cercetători morganiști să considere această transformare ca o includere de gene provenite de la tipul de pneumococ eterolog. Cercetări ulterioare au arătat că este mult mai probabilă ipoteza asimilării active a acidului dezoxiribonucleic, această asimilare a unui factor din mediu determinînd modificările ulterioare corespunzătoare. Transformarea nu depinde numai de prezența acidului dezoxiribonucleic, dar și de alți factori, în parte amintiți mai sus. Studiul transformărilor care se produc sub influența acidului dezoxiribonucleic au arătat că ele sînt mult mai complexe decît s-a crezut la început. În afară de dobîndirea proteinei „M", a capacității de a fermenta unele zaharuri etc., chiar polizaharidul de același tip dobîndit de la forma „S" respectivă poate suferi variații în compoziție și cantitate. Explicarea acestor fenomene din punctul de vedere morganist care deseori împărțirea moleculei de acid dezoxiribonucleic, care din punct de vedere chimic și fizico-chimic este foarte unitară, în diferite „subgene" independente. Chiar în cursul transformării tipurilor de pneumococ sau de *H. influenzae* s-a observat că este nevoie de o anumită perioadă minimă de „inducție", ca și de condiții optime de viață, ceea ce indică mai degrabă un proces activ de metabolizare și nu o simplă includere a unor gene în locul rămas liber în urma pierderii unor gene de către forma „R".

Cu ajutorul acidului dezoxiribonucleic nu s-a reușit încă, cu toate încercările făcute, ca o specie să obțină anumite caractere de la o altă specie (cum ar fi de exemplu paraaglutinarea *E. coli* de către serul antidizenteric). Este caracteristic în această privință septicismul lui Lindgreen și al altor morganiști (5) față de astfel de transformări, care au fost totuși realizate în numeroase cercetări. Fenomenele de hibridare vegetativă, și mai ales cele în care participă specii diferite, au loc de obicei într-un timp mult mai lung decît cel necesar pentru transformarea pneumococilor sau a *H. influenzae*. La început apar de obicei forme instabile care, ulterior, pot fi stabilizate prin educație, ceea ce nu poate fi de loc explicat prin simpla pătrundere de gene.

Procesul de hibridare vegetativă s-a realizat și între două forme „S" diferite, avînd fiecare antigenul său glucidolipidic și unde nu se poate invoca lipsa inițială a genei responsabile de sinteza polizaharidului specific. Totuși, aceste cazuri nu sînt luate în considerare de geneticienii morganiști, care se referă numai la transformările tipurilor de pneumococi și la un număr redus de alte transformări analoge.

Mecanismul biochimic al procesului de hibridare vegetativă între specii diferite nu poate fi considerat clarificat. După Kalina, un rol important ar reveni formelor filtrabile pe care le consideră ca fiind poate nucleoproteide. El consideră componenta proteică a nucleoproteidelor la fel de importantă ca aceea de acid nucleic. Timakov a obținut transformarea unei specii în altă specie sub acțiunea antigenului total, iar Kosikov realizează dobîndirea proprietății de a fermenta zaharoza sub influența fermentului zaharază.

Oricare ar fi însă procesul intim al acestor transformări, toate cercetările de pînă acum arată că este vorba de un proces activ de asimilare de către microorganisme a substanțelor produse de alte microorganisme și prin aceasta, în esența sa, hibridarea vegetativă la microorganisme nu se deosebește de hibridarea vegetativă la plante superioare și animale.

Cunoașterea procesului de hibridare vegetativă și interpretarea lor pe baza concepțiilor miciuriniste a permis elaborarea unor metode noi pentru transformarea naturii microorganismelor. Ea a dat și explicația unor modificări ereditare care se întîlnesc frecvent în natură. Procesele de hibridare vegetativă nu pot fi însă considerate ca factorul determinant al evoluției filogenetice a microorganismelor. În urma hibridării vegetative se dobîndesc de cele mai multe ori proprietăți ale unor microorganisme care fac parte din specii existente și numai rareori se dobîndesc proprietăți noi. Factorul determinant al dezvoltării evolutive a microorganismelor poate fi considerat mai degrabă mediul ambiant, condițiile de nutriție, macroorganismul în cazul microorganismelor patogene, interrelațiile cu alte microorganisme văzute în totalitatea lor etc. Toți acești factori au contribuit la apariția tipurilor ecologice de microorganisme amintite, ca și a diversității proceselor metabolice ce pot fi realizate de microorganisme.

În concluzie putem afirma că principalele metode de lucru ale biologiei miciuriniste (adaptate desigur la specificul micro-

Scanned with OKEN Scanner

organismelor) se pot aplica în aceeași măsură în dirijarea eredității microorganismelor, ca și în dirijarea eredității plantelor și animalelor.

În transformarea dirijată a naturii plantelor și animalelor nu s-a recurs de obicei la aplicarea oarecum mecanică a unei singure metode, ci la îmbinarea mai multor metode alese pe baza studiului cerințelor specifice ale organismului și la educarea și selecția ulterioară a formelor obținute. Aceste principii metodologice sînt la fel de valabile și în microbiologie.

În multe cercetări de variabilitate experimentală s-a observat că rezultatele finale depind într-o bună măsură de alegerea tulpinii de origine. Weil și Binder de exemplu, încercînd să obțină tulpini de bacili dizenterici care să dobîndească caracterele serologice ale unui alt tip de bacil dizenteric, a studiat 38 de tulpini în 225 de combinații, obținînd numai de două ori rezultate pozitive. O proporție analogă de rezultate pozitive a fost semnalată și de Boivin în experiențele de transformare a tipului serologic la *E. coli*. Pentru obținerea unor tulpini paraaglutinabile de *B. proteus*, Zilber a studiat combinațiile a 13 tulpini de *B. proteus* cu 4 tulpini de B. tific, obținînd rezultate pozitive numai într-o singură combinație. Dobîndirea unor caractere fermentative noi și mai ales întărirea unor caractere existente se realizează și ea deseori foarte greu. Din această cauză, alegerea tulpinilor de origine, ca și studiul prealabil al proprietăților lor are o importanță foarte mare în toate experiențele de transformare a naturii microorganismelor.

Pentru obținerea unor tulpini cu activitate biochimică mărită, se pleacă deseori fie de la tulpini izolate din producție, bine adaptate la condițiile în care are loc procesul de producție, fie de la tulpini locale, adaptate la condițiile de temperatură din regiunea respectivă. În cazul transformării tipurilor de pneumococi sau de *E. coli* sub influența acidului timonucleic, se pot obține rezultate pozitive numai cu tulpini care au o activitate timonucleazică slabă. Porokov, în experiențele de hibridare vegetativă a *E. coli* cu *B. decumanicidium* a ajuns la rezultate mai bune cu tulpini izolate de la bovine, la care creșterea ulterioară pe medii preparate pe bază de organe de șobolan duce, după părerea autorului la zdruncinarea eredității. Muromțev obține transformarea *Cl. tetani* și *Cl. welchii* în forme aerobe numai la bacterii proaspăt izo-

late din sol, cele păstrate mai mult timp în condiţii de laborator şi cele izolate din organismul bolnav avînd tipul de metabolism anaerob bine fixat.

Biologia miciurinistă acordă o mare importanţă stadiului de dezvoltare ontogenetică a organismului. Zdruncinarea eredităţii în cursul dobîndirii unor caractere noi şi a obligaţiei impuse organismului de a-şi schimba tipul de metabolism este probabil strîns legată de stadiul de dezvoltare ontogenetică a microorganismului. Problema dezvoltării ontogenetice a microorganismelor nu este însă rezolvată. Kalina, Krestovnikova şi alţi autori consideră formele filtrabile cu un stadiu de dezvoltare a microorganismelor, în care ereditatea lor este zdruncinată, microorganismele fiind deosebit de uşor accesibile influenţei mediului [1]). În cursul regenerării formelor filtrabile, Kalina, Grinbaum, Timakov şi alţii au obţinut uneori forme cu proprietăţi diferite de cele ale tulpinii de origine, mai ales la bacilul dizenteric. Datele lui V. A. Ivanova (79), care arată că primele stadii de regenerare a formelor filtrabile de bacili dizenterici se caracterizează printr-o imunogenitate înaltă şi o structură antigenică comună cu diferite tipuri serologice, indică şi ele perspectivele largi pe care le oferă utilizarea formelor filtrabile sau a diferitelor stadii de regenerare pentru modificarea dirijată a eredităţii acestor microorganisme.

Faza de disociaţie a culturii, ca şi vîrsta ei, poate avea o mare importanţă în obţinerea unor rezultate pozitive. În general, se consideră că formele „R“ au o ereditate mai labilă, fiind mai uşor accesibile procesului de hibridare. Tulpini care au devenit paraaglutinabile faţă de o specie, sau care şi-au pierdut recent caracterul de paraaglutinabilitate, pot şi ele dobîndi mai uşor caractere noi în urma zdruncinării eredităţii în cursul procesului de hibridare.

Un alt element important pentru reuşita modificării eredităţii microorganismelor este impunerea obligaţiei de a se adapta la un anumit factor din mediu, organismele nemodificîndu-se atît timp cît mediul corespunde eredităţii lor. În

---

[1]) Concepţia despre formele filtrabile ca stadiu de dezvoltare a microorganismelor nu este împărtăşită de Krivinski, Ierusalimski şi alţi cercetători care consideră ca dezvoltare ontogenetică, alternarea proprietăţilor fiziologice şi morfologice ale populaţiei bacteriene în mediul ei natural cum ar fi de exemplu alternarea formei vegetative cu sporul.

experiențele de hibridare vegetativă se obțin deseori rezultate mai bune dacă microorganismul de educat este obligat să utilizeze substanțele provenite de la mentor. În experiențele lui Zilber, *B. proteus* supus influenței B. tific, este pus în saci de colodiu cu ser fiziologic, pe cînd B. tific se dezvoltă într-un mediu bogat; la fel în experiențele cercetătoarei Ermolieva, V. holeric și *Alcaligenes faecalis* devin fiecare la rînd mentor și microb de educat, în funcție de condițiile în care sînt puși, iar metoda Graciova, de transformare a unor specii de Enterobacteriacee în altele, se bazează și ea pe obligația impusă de a utiliza componentele celuilalt organism. Uneori mai trebuie realizate în același timp și condiții optime de dezvoltare și de aceea experiențele de transformare a pneumococilor de exemplu, reușesc numai în medii bogate. Obținerea unor tulpini cu caractere fermentative noi sau cu capacități mărite de a sintetiza factori de creștere necesită și ea, în marea majoritate a cazurilor, crearea unor condiții în care microorganismul este obligat să fermenteze zahărul respectiv sau să formeze factorul de creștere a cărui sinteză vrem să o introducem.

După modificarea naturii microorganismului se obține de obicei o populație eterogenă, care nu are toate caracterele utile dorite de cercetător. Din această cauză, de obicei se recurge la selecția tulpinilor cu proprietăți utile și educarea ulterioară a formelor obținute. Kalina, de exemplu, recurge, după obținerea unor tulpini paraaglutinabile de *E. coli*, la educarea lor ulterioară în organismul șoarecilor. Prokorov adaugă în același scop la mediu extracte de organe de șobolani, chiar în cursul procesului de hibridare, iar în cazul microorganismelor cu importanță industrială sau agricolă, se face deseori adaptarea lor prealabilă la condițiile de producție sau de sol, înainte de a le întrebuința în practică.

Deci pentru diferitele etape ale procesului de transformare (alegerea tulpinilor, zdruncinarea eredității, obținerea și educarea ulterioară a variantelor obținute) se pot întrebuința metode cu totul diferite.

Aceste cîteva date arată că modificarea dirijată a eredității microorganismelor este un proces complex, în care, ca și în cazul modificării eredității plantelor și animalelor, nu se poate întrebuința o singură metodă, ci de cele mai multe ori se aplică un număr mai mare de metode de educare și selecție,

Scanned with OKEN Scanner

alese după natura microorganismului de transformat și scopul propus. Dacă pentru obținerea unor forme de microorganisme, la care nu interesează decît deosebirile față de forma de origine, este deseori suficientă o singură metodă, pentru obținerea unor microorganisme de utilitate practică ne putem aștepta la rezultate mai bune, prin utilizarea unui complex de metode bazate pe o cunoaștere cît mai bună a biologiei microorganismului respectiv.

Scanned with OKEN Scanner

ÎNCHEIERE

Diferitele aspecte ale legăturii microorganismelor cu mediul, atinse în cursul acestei lucrări, au fost analizate uneori cu metode cu totul diferite.

Datele cu privire la caracterele generale ale metabolismului au fost folosite într-o măsură mult mai mare în capitolele despre nutriția microorganismelor sau în analiza influenței factorilor fizici, decît în capitolul despre variabilitatea microorganismelor în mediul lor natural. Expunerea modificărilor temporare ale microorganismelor patogene în raport cu macroorganismul s-a făcut după principii cu totul diferite de cele urmate la descrierea modificărilor temporare ale caracterelor enzimatice etc.

Diversitatea metodelor de caracterizare la care am recurs în expunerea noastră corespunde într-o bună măsură deosebirilor mari între metodele de lucru ale diferitelor ramuri ale microbiologiei. Privită în ansamblul ei, microbiologia este în stadiul ei actual cu mult mai puțin unitară decît botanica sau zoologia, de exemplu, și putem vorbi astăzi încă într-o măsură mult mai mică de o biologie generală a microorganismelor, decît de o biologie generală a plantelor sau a animalelor.

Din datele fragmentare pe care le-am expus se desprinde totuși o concluzie generală valabilă pentru explicarea tuturor aspectelor atinse în această lucrare și anume că nu există nici un caracter fiziologic, de cultură sau morfologic al microorganismelor, a cărui apariție să nu fie determinată de mediul pe care s-a dezvoltat microorganismul respectiv sau pe care

Scanned with OKEN Scanner

s-au dezvoltat înaintașii săi. Această lege de bază a biologiei miciuriniste este la fel de valabilă pentru microorganisme, ca și pentru toate celelalte organisme vii.

Într-adevăr, explicația cauzală a apariției diferitelor tipuri ecologice de microorganisme poate fi găsită numai în urma studiului condițiilor de mediu care au determinat apariția lor. La fel, toate modificările ereditare pe care le-am analizat, nu pot căpăta o explicație rațională dacă nu se admite că la baza lor stau procese de adaptare și selecție. Cerințele deseori foarte specifice în anumite substanțe nutritive, sau legătura specifică a bacteriilor patogene cu macroorganismul, nu pot fi nici ele explicate în mod satisfăcător fără admiterea naturii lor adaptative.

Analiza modificărilor adaptative în funcție de mediu a arătat că, la fel ca la toate celelalte organisme vii, adaptarea la mediu a microorganismelor nu poate fi cuprinsă în forme simple, fără a se analiza fenomenul în toată complexitatea sa. Factorii determinanți din mediu, ca și răspunsul adaptativ al microorganismelor, nu pot fi reduse la elemente izolate, oricît de mare ar fi importanța lor. În același timp însă, există o diferențiere precisă a importanței factorilor din mediu, în funcție de cerințele specifice ale microorganismelor.

Astfel apariția tipului ecologic la microorganismele patogene nu poate fi explicată fără a se ține seama de filogenia speciilor respective, de cerințele lor specifice față de mediu și de reacțiile macroorganismului față de acțiunea microorganismului. Nici măcar în analiza legăturilor cu mediul ale unor microorganisme atît de specializate ca stenotermofilele, nu ne putem rezuma în mod exclusiv numai la factorul temperatură. Totuși, și în cazul apariției tipului ecologic „microorganism patogen“ și în apariția stenotermofilelor există anumiți factori determinanți, fără de care apariția acestor tipuri ecologice nu poate fi concepută — macroorganismul, respectiv temperatura înaltă.

La fel ca la toate celelalte organisme vii, apariția microorganismelor adaptate în mod „armonic“ la condițiile mediului ambiant nu se poate explica numai prin adaptarea la mediu, fără a se ține seama de procesul de selecție. Numai îmbinarea continuă a selecției cu procesele de adaptare a putut duce la specializarea uneori foarte strictă a microorganismelor, în funcție de anumite condiții de mediu.

Scanned with OKEN Scanner

Studiul eredității microorganismelor, ca și modificarea sa experimentală, nu pot fi despărțite de analiza legăturii metabolice a microorganismelor cu mediul. Din această cauză, cele două părți ale acestei lucrări nu reprezintă decît două aspecte ale acestor legături.

Faptul că ereditatea microorganismelor nu poate fi ruptă de mediu determină și metodele de lucru pentru modificarea lor experimentală.

Principiile generale care stau la baza metodelor de lucru miciuriniste sînt în aceeași măsură valabile în microbiologie, ca și în toate celelalte ramuri ale biologiei ; totuși, ca și în cazul modificării eredității plantelor și animalelor, aplicarea lor nu poate fi făcută pe baza unor formule generale, ci numai pe baza studiului multilateral al microorganismului respectiv.

Modificarea experimentală a eredității microorganismelor cere un studiu aprofundat al cerințelor specifice față de mediu și al ontogeniei speciei respective și aplicarea unor metode corespunzătoare, ca zdruncinarea eredității, educare etc.

Cu toate că astăzi studiul experimental al variabilității microorganismelor nu poate fi considerat încă decît într-o mică măsură ca o dirijare conștientă a eredității microorganismelor, în felul în care ea se face la plante și animale, totuși introducerea concepțiilor și metodelor de lucru miciuriniste și acumularea unui material faptic tot mai bogat, dau într-o măsură tot mai mare, microbiologilor, nu numai curajul, dar și metodele de lucru necesare pentru transformarea naturii microorganismelor în folosul omului.

Scanned with OKEN Scanner

BIBLIOGRAFIE

1. Abraham E. A., *Antibiotiki*. Moscova, 1951, p. 148—215.
2. Ado A. D., *Antighenî kak cerezviceainie razdrajiteli nervnoi sistemî*. Izd. Akad. Med. Nauk SSSR, Moscova, 1952.
3. Alexandrov B. G., *Silikatnîie bakterii*. Selhozghiz, Moscova, 1953.
4. Allen O. N. a. Baldwin J. L., Wisc. Agr. Exp. St. Bull., 1931, vol. 106, p. 56.
5. Austrian R., Bact. Rev., 1952, vol. 16, p. 101.
6. Avery A., Mc Leod C. a. Mc Carthy M., J. Exp. Med., 1944, vol. 79, p. 137.
7. Babeş V., *Curs de Bacteriologie*. Bucureşti, 1900.
8. Bîcikov S. M., Uspehi sovr. biol., 1949, vol. 27, nr. 3, p. 479.
9. — Dokladî Akademii Nauk SSSR, 1951, vol. 77, nr. 4.
10. Beliţer V. A., Uspehi biol. himii, 1950, vol. 1, p. 53.
11. Belozerski A. N. i Zaiţeva G. N., Dokladî Akademii Nauk SSSR, 1953, vol. 84, nr. 4, p. 769.
12. Berand P., C. R. Soc. Biol., 1941, vol. 135, p. 686 şi 872.
13. Boivin A., Exposés Annuels de Biochimie Médicale, 1947, vol. 7, p. 63—110.
14. Braun W., Bact. Rev., 1947, vol. 11, nr. 2, p. 75.
15. Braunstein E. A., *Biohimia aminokislotnogo obmena*. Izd. Akad. Med. Nauk SSSR, Moscova, 1949.
16. — Uspehi biol. himii, 1950, vol. 1.
17. — Uspehi sovr. biol., 1953, vol. 35, nr. 1, p. 26.
18. Bresler S. E., Uspehi sovr. biol., 1950, vol. 30, nr. 1, p. 90.
19. Brodskaia S. Z., Mikrobiologhia, 1945, vol. 14, nr. 1.
20. Brunner D. W. a. Edwards P. R., J. Bakt., 1941, vol. 42. p. 467—478.
21. Cantacuzino I. et Bonciu O., C. R. Acad. Sci., 1927, vol. 189, p. 1603.
22. Constantin I., Magrou I., Bourget et Iandel V., C. R. Acad. Sci., 1944, vol. 198, p. 1195.
23. Demerec M., Proc. Nat. Ac. Sci., 1945, vol. 31, nr. 1.
24. Dieudonné A., Centralbl. Bakt., 1894, nr. 16, p. 965.
25. Dubos R. I., Ergebnisse der Ensymforschung, 1939, vol. 8, p. 135.

Scanned with OKEN Scanner

26. Dubos R. I. *Bakterielnaia kletka.* Gosinizdat, Moscova, 1948.
27. Dumeş M. G., *Trudî konferenţii po napravlennoi izmencivosti i selekţii mikroorganizmov.* 197. Gorki, 1949.
28. Duran-Reynolds F., Bact. Rev., 1942, vol. 6, p. 197.
29. Elin V. L. i Stanskaia B. A., Jurnal mikrobiologhii, epidemiologhii i imunobiologhii, 1940, nr. 6.
30. Engels Fr., *Anti-Dühring.* Ed. P. M. R., 1952.
31. Ereinova T. V., Mikrobiologhia, 1948, vol. 17, p. 15.
32. Fedorov M. V., *Biologhiceskaia fixaţia azota atmosferî.* Selhozghiz, Moscova, 1948.
33. — Mikrobiologhia. Selhozg hiz, Moscova, 1949.
34. — Mikrobiologhia, 1953, vol. 22, nr. 5, p. 586.
35. Fenixova R. V., Mikrobiologhia, 1951, vol. 20, nr. 6, p. 556.
36. Fieldes P., Gladstone G. P. a. Knight B. C., Brit. J. Exp. Path., 1929, vol. 14, p. 189—196.
37. Frutton I. a. Simmons S., *Cold. Spr. Harb. Symposio on quantitative biology.* 1950, vol. XIV.
38. Gale E. F., Bact. Rev., 1943, vol. 7, p. 139.
39. Gale E. F. a. Epps H., Biochim. J., 1942, vol. 36, p. 600.
40. Galulina Z. I., *Trudî konferenţii institutov epidemiologhii i mikrobiologhii po problema izmencivosta mikrobov.* 73. Gorki, 1949.
41. Gamaleia N. F., *Infekţia i imunitet.* Biomedghiz, Moscova, 1939.
42. — Agrobiologhia, 1946, nr. 3.
43. Ganghran E. R., Bact. Rev., 1947, vol. II, nr. 3, p. 189.
44. Gauze G. F., Uspehi sovr. biol,. 1947, vol. 23, p. 405.
45. — Uspehi sovr. biol., 1950, vol. 29, p. 263.
46. — Uspehi sovr. biol., 1952, vol. 34, nr. 3, p. 354.
47. — *Lekţii po antibiotikam.* Moscova, 1953.
48. Gäumann E., Zentrbl. Bakt. I Orig., 1952, vol. 158, p. 712.
49. Gibşman M. P., Mikrobiologhia, 1945, vol. 14, nr. 6.
50. Gilissen G., Archiv f. Hygiene u. Bakteriologie, 1952, vol. 136, nr. 4.
51. Gilissen G. u. Meyer I., Zentrbl. Bakt., 1951, vol. 156, p. 365-371.
52. Glaser V., J. Parasitol., 1946, vol. 32, p. 483.
53. Glezerova N. N., *Trudî konferenţii institutov epidemiologhii i mikrobiologhii po problema izmencivosti mikrobov.* 170. Gorki, 1949.
54. — *Trudî konferenţii po napravlennoi izmencivosti i selekţii mikroorganizmov,* 122. Izd. Akad. Nauk SSSR, Moscova, 1952.
55. Gluşcenko I. E., *Hibridarea vegetativă a plantelor.* Ed. Acad. R.P.R., 1952.
56. Graciova P. N., Agrobiologhia, 1946, nr. 3, p. 24.
57. Griffith E., J. of Hyg., 1928, vol. 27, p. 113.
58. Grinbaum F. T., *Trudî konferenţii po napravlennoi izmencivosti i selekţii mikroorganizmov.* 92. Izd. Akad. Nauk SSSR, Moscova, 1952.
59. Hadley P., J. Infect. Diseases, 1927, vol. 40, p. 1—312.
60. — J. Infect. Diseases, 1939, vol. 65, p. 67—272.
61. Harris I. O., J. Biol. Chem., 1946, vol. 162, p. 11.
62. Hastings E. G., Bact. Rev., 1944, vol. 8, p. 235.
63. Hersin R. V., Uspehi sovr. biol., 1951, vol. 31, p. 57.
64. Hinshelwood C. N., *The chemical kinetics of the bacterial cell.* Calderon Press, Oxford, 1946.

Scanned with OKEN Scanner

65. Horowitz-Wlasova L. M., Zentrbl. Bakt. II, 1933, vol. 89, p. 54
66. Hudiakov Ia. Pr. i Vosnesovskaia I. M., Mikrobiologhia, 1951, vol. 20, nr. 1, p. 12.
67. Ierusalimski N. D., Mikrobiologhia, 1947, vol. 16, p. 336.
68. — *Vitaminoe i aminokislotnoe pitanie bakterii.* Izd. Akad. Nauk SSSR, Moscova, 1949.
69. — Trudî Instituta Mikrobiologhii, 1951, vol. 1, p. 44.
70. — Mikrobiologhia, 1951, vol. 20, nr. 3, p. 206.
71. Ierusalimski N. D. i Neronova N., Mikrobiologhia, 1946, vol. 15, p. 4.
72. Imşeneţki A. A., *Stroenie bakterii.* Moscova, 1940.
73. — *Mikrobiologhiceskie proţesî pri vîsokîh temperaturah.* Izd. Akad. Nauk SSSR, Moscova, 1944.
74. — Mikrobiologhia, 1945, vol. 14, nr. 3.
75. — Mikrobiologhia, 1948, vol. 18, nr. 5, p. 393.
76. Imşeneţki A. A. i Kuzirino L. A., Mikrobiologhia, 1950, vol. 20, nr. 1, p. 4.
77. Joffe V. I. i Rozental K. M., Jurnal mikrobiologhii, epidemiologhii i imunobiologhii, 1944, nr. 3, p. 23.
78. Iohanson K. R. a. Saches W. B., Bact. Rev., 1949, vol. 13, nr. 1, p. 25.
79. Ivanova V. A., Jurnal mikrobiologhii, epidemiologhii i imunobiologhii, 1953, nr. 11, p. 12.
80. Jdanov V. M., *Zaraznie zabolevania celoveka.* Medghiz, Moscova, 1953.
81. Kalina G. P., *Izmencivosti patoghennîh mikroorganizmov.* Medghiz, Kiev, 1949.
82. — *Veghetativnaia ghibridizaţia i napravlenaia izmencivosti bakterii.* Medghiz, Kiev, 1952.
83. Kalina G. P. i Begmeister A. L., Jurnal mikrobiologhii, epidemiologhii i imunobiologhii, 1946, nr. 9.
84. Kalinenko A. I., Dokladî Akademii Nauk SSSR, 1953, vol. 92, nr. 1, p. 161.
85. Kamienski F. M., Bot. Ztg., 1881, vol. 89, p. 457.
86. Karström H., Ergebnisse der Ensymologie, 1937, vol. 7, p. 350—376.
87. Kirtovici G. N., Uspehi sovr. biol., 1951, vol. 31, nr. 1, p. 101.
88. Knapp W. u. Garner D. V., Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten, 1951, vol. 32, p. 23.
89. Koch A., Zentrbl. Bakt. I Orig., 1952, vol. 158, p. 315-363.
90. Kocholaty W., Weil L. a. Smith L., Biochem. J., 1938, vol. 32, p. 1685—1690.
91. Komarova L. I., Trudî Instituta Mikrobiologhii, 1951, vol. I, p. 136.
92. Komoda K., Zentrbl. Bakt. I Orig., 1930, vol. 118, p. 304.
93. Konikova A. S. i Dobert N. N., Biochimia, 1947, vol. 12, p. 87.
94. Kosikov K. V., Dokladî Akademii Nauk SSSR, 1950, vol. 73, nr. 2, p. 381.
95. — *Nasledovanie priobretennîh priznakov u mikroorganizm v. Protia reakţionogo mendelizm-morganizma.* 230. Izd. Akad. Nauk SSSR, Moscova, 1950.
96. — Dokladî Akademii Nauk SSSR, 1951, vol. 80, p. 115.
97. — Mikrobiologhia, 1951, vol. 20, nr. 4, p. 365.

Scanned with OKEN Scanner

98. Kosikov K. V., *Trudî konferenţii po napravlennoi izmencivosti i selekţii mikroorganizmov*, 281. Izd. Akad. Nauk SSSR, Moscova, 1952.
99. — Dokladî Akademii Nauk SSSR, 1952, vol. 83, nr. 1, p. 139.
100. Krasilnikov N. A., Mikrobiologhia, 1945, vol. 14, nr. 4.
101. — Dokladî Akademii Nauk SSSR, 1951, vol. 79, nr. 5, p. 879.
102. — Uspehi sovr. biol., 1951, vol. 31, nr. 3, p. 346.
103. — Trudî Instituta Mikrobiologhii, 1951, vol. 1.
104. — Uspehi sovr. biol., 1952, vol. 33, nr. 3.
105. — Izv. Akad. Nauk SSSR, ser. biol., 1953, vol. 35, nr. 2, p. 49.
106. Krasilnikov N. A. i Nikitina N. A., Mikrobiologhia, 1951, vol. 20, nr. 3, p. 217.
107. Kravcenko A. T., *Trudî konferenţii po napravlennoi izmencivosti i selekţii mikroorganizmov*. 133. Izd. Akad. Nauk SSSR, Moscova, 1952.
108. Krestovnikova V. A., *Trudî konferenţii institutov epidemiologhii i mikrobiologhii po problema izmencivosti microbov*. Moscova, 1949, p. 87—103.
109. Kriţman M. G., Mikrobiologhia, 1952, vol. 21, nr. 4, p. 480.
110. Kriţman M. G. i Kosikova A. S., Uspehi biol. himii, 1950, vol. 1, p. 203.
111. Krivinski A. S., *Trudî konferenţii po napravlennoi izmencivosti i selekţii mikroorganizmov*. 126. Izd. Akad. Nauk SSSR, Moscova, 1952.
112. Kublanovskaia G. M., Mikrobiologhia, 1952, vol. 21, nr. 3, p. 340.
113. Kudriavţev I. V., *Trudî konferenţii po napravlennoi izmencivosti i selekţii mikroorganizmov*. 147. Izd. Akad. Nauk SSSR, 1952.
114. Kudriavţev B. A., *Biologhiceskie osnovî ucenia o vitaminah*. Moscova 1946.
115. Kuhn Ph. a. Woite A., Zentrbl. Bakt. I Orig., 1909, vol. 44, p. 123.
116. Kursanov A. L., *Fermenţi*. Izd. Akad. Nauk SSSR, Moscova-Leningrad, 1940.
117. Kuzneţov N. A., Mikrobiologhia, 1948, vol. 17, nr. 4.
118. Kvasikov E. I., Mikrobiologhia, 1952, vol. 21, nr. 2.
119. — *Trudî konferenţii po napravlennoi izmencivosti i selekţii mikroorganizmov*. 139. Izd. Akad. Nauk SSSR, Moscova, 1952.
120. Lenti G., Giorn. Bact. Immunol., 1947, vol. 37, nr. 19, p. 31 şi 38.
121. Leontiev I. F., Priroda, 1949, nr. 12, p. 40.
122. Lewis I. N., J. Bact., 1934, vol. 28, p. 619.
123. Longhinova L. G., Mikrobiologhia, 1946, vol. 15, p. 398.
124. — Mikrobiologhia, 1948, vol. 17, p. 15.
125. Lwoff A., *Evolution physiologique*. Hermann, Paris, 1943.
126. Machebeuf N. A. et Gron S. Exposés Annuels de Biochimie Médicale, 1951, vol. 12, p. 141—160.
127. Magrou I., *Les Maladies des Végetaux. L'Expansion Scientifique*. Paris, 1947.
128. Malkov A. M., Dokladî Academii Nauk SSSR, 1951, vol. 77, nr. 1, p. 87.
129. Mardaşev L. P., Eintighof P. M. i Manolevskaia L. I a., Mikrobiologhia, 1948, vol. 18, nr. 3, p. 238.

Scanned with OKEN Scanner

130. Maisel M. N., Uspehi biol. himii, 1950, vol. 1, p. 390.
131. — *Funkţionalnaia morfologhia drojjih organizmov*. Izd. Akad. Nauk SSSR, Moscova, 1951.
132. Maisel M.N., Pomocinikova N. A. i Sovlovski Iu. M., Dokladî Akademii Nauk SSSR, 1950, vol. 76, nr. 6, p. 1065.
133. Mc Carty M., Bact. Rev., 1946, vol. 10, p. 63—71.
134. Medvinskaia L. I., *Trudî konferenţii po napravlennoi izmencivosti i selekţii mikroorganizmov*. 174. Izd. Akad. Nauk SSSR, Moscova, 1952.
135. Manfoldo H. e Hounie E., Boll. Ist. Sier. Milanese, 1951, vol. 31, nr. 11—12, p. 650.
136. Manteufel A. Ia., Jukova A. I. i Deminova E. C., Mikrobiologhia, 1950, vol. 19, nr. 6, p. 547.
137. Martin G. I., Am. J. of Physiol., 1942, vol. 136, p. 124—127.
138. Massini R., Arch. f. Hyg., 1907, vol. 61, p. 250.
139. Meşkov N. V., Mikrobiologhia, 1950, vol. 19, nr. 2, p. 108.
140. — Jurnal obş. biol., 1952, nr. 1, p. 76—81.
141. Mesrobeanu I., Bul. ştiinţ. Acad. R.P.R., Secţiunea de ştiinţe med., t. IV, nr. 2, aprilie-mai-iunie 1952, p. 353.
142. Mecinikov I. I., Mem. Proc. Manchester Lit. a. Phil. Soc., 1900, vol. 45, p. 1—38.
143. Minkevici I. E., *Grupa kişecinoi palociki*. Medghiz, Leningrad, 1949.
144. Mişustin E. N., *Ekologo-gheograficeskaia izmencivosti pocivennîh bakterii*. Izd. Akad. Nauk SSSR, Moscova, 1947.
145. — *Termofilnîe mikroorganizmî v prirode i praktike*. Izd. Akad. Nauk SSSR, Moscova, 1950.
146. — Mikrobiologhia, 1950, vol. 19, nr. 3, p. 226.
147. — Trudî Instituta Mikrobiologhii, 1951, vol. 1, p. 155.
148. — Vestnik Akademii Nauk SSSR, 1953, nr. 4, p. 30—42.
149. Mişustin E. N. i Puşkinskaia O. I., Mikrobiologhia, 1949, vol. 18, nr. 5, p. 447.
150. Mirzabekian R. O., Izv. Akad. Nauk SSSR, 1953, ser. biol., nr. 2, p. 66.
151. Model K. M., *Biologhia i biohimia tuberkulozniî mikobakterii*. Moscova, 1952.
152. Muromţev S. N., Agrobiologhia, 1952, nr. 6.
153. — Jurnal obş. biol., 1953, nr. 7, p. 297.
154. Neisser M., Zentrbl. Bakt. I Orig., 1906, vol. 38, p. 98.
155. Nestorescu N., Popovici M. şi Zilişteanu E., Revista de igienă, microbiologie şi epidemiologie, 1953, nr. 2, p. 24.
156. van Niel, Physiological Rev., 1943, vol. 23, nr. 4, p. 238.
157. — Bact. Rev., 1944, vol. 8, nr. 1.
158. Novogmodski D. M., Uspehi sovr. biol., 1949, vol. 29, nr. 1, p. 1.
159. Oliţkaia L. K., Mikrobiologhia, 1946, vol. 15, nr. 5, p. 249.
160. Ologbina L. S., Jurnal mikrobiologhii, epidemiologhii i imunobiologhii, 1948, v. 9, p. 20 şi 22.
161. Omelianski V. K., *Osnovî mikrobiologhii*. Ucipedghiz, Moscova, 1941.
162. Oparin A., Ergebnisse der Ensymforschung, 1934, vol. 3, p. 55.
163. Oparin A. i Iurkevici N., Dokladî Akademii Nauk SSSR, 1949, vol. 66, p. 247.
164. Peretz L. H. u. Slovschy E. M., Ztschr. f. Immunitätsforsch., 1933, vol. 80, p. 520.

TABLA DE MATERII

	Pag.
Prefață	5
Introducere	7
PARTEA ÎNTÎIA — LEGĂTURA MICROORGANISMELOR CU MEDIUL	
Capitolul I. Elemente generale și specifice ale metabolismului microorganismelor	21
Capitolul II. Nutriția microorganismelor și mediul. (Bacterii autotrofe și eterotrofe)	44
1. Bacterii autotrofe	44
2. Auxoeterotrofismul și aminoeterotrofismul	57
Capitolul III. Adaptări față de factorii fizici din mediul ambiant	73
Capitolul IV. Interrelațiile dintre microorganisme și mediul lor biologic	85
1. Interrelații între microorganisme patogene și animale	86
2. Importanța microorganismelor pentru nutriția plantelor și a animalelor	106
a. Microorganismele și nutriția animalelor	107
b. Microorganismele și nutriția plantelor	113
3. Interrelații între microorganisme	128
Capitolul V. Adaptări temporare la modificările mediului	144
PARTEA A DOUA — MODIFICAREA EREDITĂȚII MICROORGANISMELOR SUB INFLUENȚA MEDIULUI	
Capitolul I. Evoluția concepțiilor despre ereditatea și variabilitatea microorganismelor	169
Capitolul II. Variabilitatea microorganismelor în condiții naturale de viață	177
Capitolul III. Modificarea experimentală a eredității microorganismelor	196
Incheiere	230
Bibliografie	233

Dat la cules 21.06.1954. Bun de tipar 11.03.1955. Tiraj 3200 ex. Hîrtie semivelină de 65 g/m². Format 16/61×86. Coli editoriale 14,3. Coli de tipar 15¹/₈. Preţul unui exemplar lei 7,90. Comanda 782. A. 02714. Pentru bibliotecile mici indicele de clasificare. 576.809.51. Pentru bibliotecile mari indicele de clasificare 76.8.

Tiparul executat la Întreprinderea Poligrafică nr. 4, Calea Şerban-Vodă 133—135, Bucureşti, R.P.R.

RIAT IAŞI